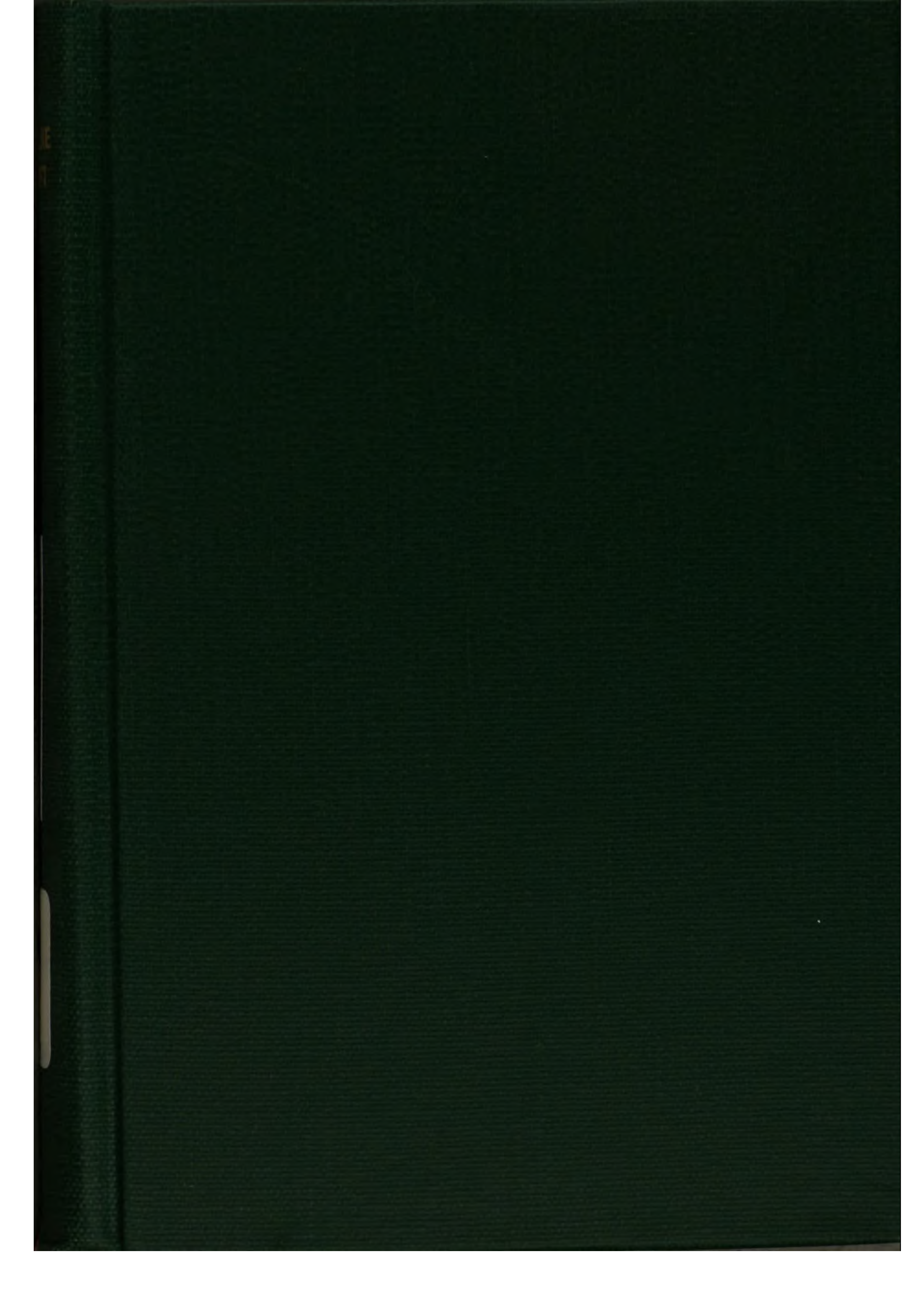
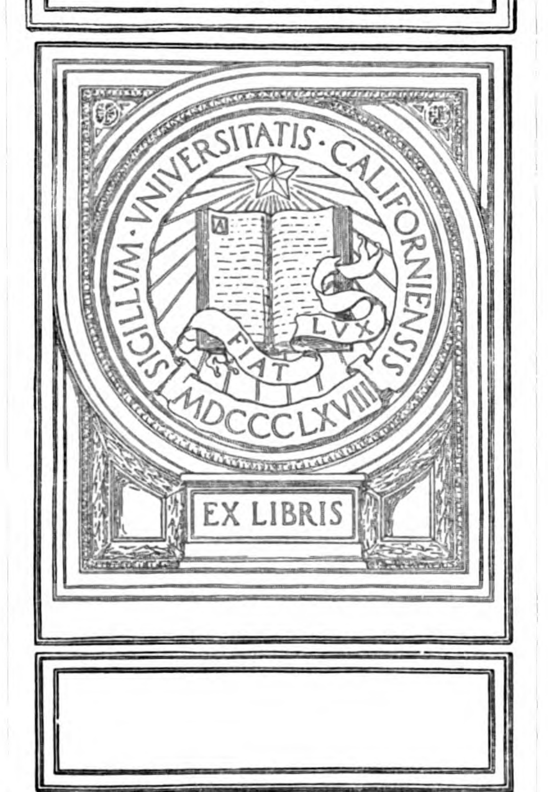



SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

herausgegeben von

C. Neuberg-Berlin

151

Hunderteinundfünfzigster Band



Berlin
Verlag von Julius Springer
1924

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn Akt.-Ges., Braunschweig.

Inhalt.

Seite

Gombos, Helene. Über die Möglichkeit, permanganat-oxydable Substanzen auf dem Wege der Spektrophotometrie zu bestimmen 1

— — Über die Unstimmigkeit in der Lage eines spektroskopisch und spektrophotometrisch bestimmten Absorptionsmaximums 7

Sierakowski, Stanisław. Über Veränderungen der H-Ionenkonzentration in den Bakterienkulturen und ihr Entstehungsmechanismus 15

Schlee, H. und W. Thiessenhusen. Die Konzentration des Silberions in Lösungen von kolloiden und komplexen Silberpräparaten mit besonderer Berücksichtigung ihrer medizinischen Anwendung. II. 27

Politzer, G. Über die Giftwirkung des Neutralrots 43

Santomauro, Pietro. Über die phytochemische Reduktion des Methyl-α-chlor-äthyl-ketons 48

Sen, H. K. Die biochemische Umwandlung von unsymmetrischem Di-chlor-aceton in optisch-aktiven α, α-Di-chlor-iso-propyl-alkohol 51

Gollwitzer-Meier, Klothilde. Abhängigkeit der Erregbarkeit des Atemzentrums von dem Gleichgewicht bestimmter Ionen im Blut . . 54

Stasiak, A. Hypoglykämie und Tierpassage 84

Csapó, J. und D. v. Klobusitzky. Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Salzflockung der Serumeiweißkörper. I. . . . 90

Lipmann, F. und J. Planelles. Blutzuckerkurven nach intravenöser Einspritzung von α-, β-, und α, β-Glucose beim Kaninchen . . . 98

Kaho, Hugo. Über die Beeinflussung der Hitzekoagulation des Pflanzenplasmas durch die Salze der Erdalkalien. VI. 102

Asher, L., J. Abelin und N. Scheinfinkel. Untersuchung über die Permeabilität der Zellen. XII. Mitteilung: Abhängigkeit der Gewebspermeabilität von der sympathischen Innervation 112

Asher, Leon. Beiträge zur Physiologie der Drüsen Nr. 67. Erneute Untersuchungen über die Milz als ein Organ des Eisenstoffwechsels. Von Kimio Nakayama 119

Medici, Giuseppe. Untersuchungen über den Einfluß einzelner Bestandteile der Ringerlösung auf die Wirkung von Hormonen 133

Kroetz, Christian. Zur Biochemie der Strahlenwirkungen. I. Mitteilung: Der Einfluß ultravioletter und Röntgenstrahlen auf die aktuelle Blutreaktion und auf die Erregbarkeit des Atemzentrums 146

Seite

Neuberg, C. und A. Gottschalk. Beobachtungen über den Verlauf der anaeroben Pflanzenatmung 167

— — Weitere Untersuchungen über die Entstehung von Acetaldehyd in tierischen Organen (Aceton-Leber) 169

Hammarsten, Einar, Zur Frage über den osmotischen Druck der hochmolaren Elektrolyte 177

Steidle, Hans. Besitzen eßbare Pilze antiskorbutische Wirkung? . . 181

Eichholtz, Fritz. Über kolloidchemische Fett-Lipoidwirkungen . . . 187

Brugsch, Theodor und Hans Horsters. Studien über intermediären Kohlenhydratumsatz und Insulin. Über die Zwischenzucker in Leber und Muskulatur. VI. 203

Tsukamoto, Ryotaro. Experimentelle Untersuchungen zur dynamischen Wirkung der Ionen auf Wachstumsvorgänge bei vitaminreicher Ernährung 216

Jorpes, Erik. Zur Frage nach den Pankreasnucleinsäuren 227

Verzár, F. und B. Vásárhelyi. Der CO_2-Gehalt des Kapillarblutes und seine Bestimmung 246

Verzár, F. und A. Zih. Weitere Untersuchungen über die Stoffwechselregulierung bei B. coli comm. III. 254

Kochmann, Rudolf. Über Auxoureasen. Der Mechanismus der Kalkwirkung 259

Stern, Rudolf. Physikalisch-chemische Untersuchungen über die Harnsäure. II. Mitteilung: Über die hydrotropische Beeinflussung der Harnsäure 268

Hári, P. Über einen Fall von Porphyrinurie 274

Glaser, Erhard und Lazar Wittner. Über die blutzuckerherabsetzende Wirkung von Pflanzenextrakten und Oxydasen sowie den Nachweis von Fermenten im Insulin 279

Lundegårdh, H. und Vl. Morávek. Untersuchungen über die Salzaufnahme der Pflanzen. I. Mitteilung: Die gegenseitige Beeinflussung der Ionen 296

Herzfeld, Ernst und Werner Engel. Über chinin- und atoxylfeste Lipasen in der Thyreoidea 310

Jacoby, Martin und Margarete Jacoby. Über die Einwirkung der Sonnenbestrahlung auf das Komplement 314

Brugsch, Theodor, Hans Horsters und Giichi Shinoda. Studien über intermediären Kohlenhydratumsatz an der Leber bei gleichzeitiger Verfolgung des Gaswechsels (Norm, Hunger, Insulinwirkung, pankreoprive Leber). VII. 318

Hatano, J. Über die Spaltung von Seidenfibroinpepton durch Takadiastase 335

Ruoss, Hermann. Über die Gesetze der Reduktionskraft organischer Verbindungen in alkalischer Lösung und die quantitative Bestimmung des Zuckers durch Stufenanalyse auch bei kolloidalem Ausscheiden des Cu_2O 337

Seite

Ruoss, Hermann. Nachweis des Traubenzuckers im Harn mit alkalischer Kupfer-Glycerinlösung für die Praxis 357

Barendrecht, H. P. Saccharase und die zweite Wirkungsart der Wasserstoffionen 363

Stärkle, Max. Die Methylketone im oxydativen Abbau einiger Triglyceride (bzw. Fettsäuren) durch Schimmelpilze unter Berücksichtigung der besonderen Ranzidität des Kokosfettes. Anhang: I. Die Bedeutung der Methylketone im Biochemismus der Butterranzidität. II. Über die Entstehung und Bedeutung der Methylketone als Aromastoffe im Roquefortkäse 371

Wollheim, Ernst. Vegetatives Nervensystem und Elektrolytverteilung 416

Gollwitzer-Meier, Klothilde. Die chemische Atmungsregulation bei alkalischer Blutreaktion 424

Kerb, Johannes und **Elisabeth Kerb-Etzdorf.** Zur Kenntnis der Glucosane. Nachtrag zu der früheren Mitteilung 435

Kémeri, D. Über einen neuen porphyrinartigen Bestandteil normaler menschlicher Fäzes 438

Kroetz, Christian. Zur Biochemie der Strahlenwirkungen. II. Mitteilung. Der Einfluß der ultravioletten und Röntgenstrahlung auf den Wasser-, Salz- und Eiweißbestand des Serums 449

Komarow, S. A. Zur Frage nach dem Mechanismus der Darmsekretion. III. Mitteilung: Über die Einwirkung des Carnosins auf die Darmsekretion 467

Asher, Leon. Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 68. Die Wechselwirkung zwischen Milz und Leber. Von Magobei Kobayashi 491

Hatano, J. Über Amygdalinspaltung durch Takadiastase 498

— — Über die Spaltung verschiedener β-Glusoside durch Takadiastase 501

Autorenverzeichnis 504

Über die Möglichkeit, permanganat-oxydable Substanzen auf dem Wege der Spektrophotometrie zu bestimmen.

Von

Helene Gombos.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der königl. ung. Universität Budapest.)

(Eingegangen am 8. Juli 1924.)

Die überaus guten Erfahrungen, die im obengenannten Institut seit Jahren bereits sowohl mit dem alten *König*schen, als auch besonders mit dem nach *Martens* und *Grünbaum* modifizierten *König*schen Spektrophotometer gemacht wurden, ließen den Gedanken rege werden, daß es wohl möglich wäre, der quantitativen Bestimmung geringster Mengen solcher organischer Substanzen, die durch Kaliumpermanganat oxydabel sind, abweichend von dem bisher üblichen Titrationsverfahren die Änderung zugrunde zu legen, die die Lichtabsorption einer Permanganatlösung anläßlich ihrer Reduktion erfährt.

Eine der Grundbedingungen der Ausführbarkeit dieses Verfahrens ist die genaue Kenntnis des Absorptionsverhältnisses (*Vierordt*) reiner Permanganatlösungen an gewissen, als geeignet befundenen Stellen des Spektrums; eine zweite, daß die einmal festgestellten Absorptionsverhältnisse auch wirklich Konstanten darstellen, also bei der sich wahrscheinlich ergebenden Notwendigkeit, die zu untersuchende Permanganatlösung zu verdünnen, sich nicht (etwa infolge weiterer Dissoziation) verändern.

Zweck dieser Arbeit war zunächst nur, festzustellen, ob diese Grundbedingungen gegeben sind oder nicht?

Der Apparat, an dem die nachstehend geschilderten Untersuchungen ausgeführt wurden, war das seinerzeit von Prof. *Hári*[1]) justierte und kalibrierte, nach *Martens* und *Grünbaum* modifizierte *König*sche Spektrophotometer (große Beleuchtungsvorrichtung). Der Objektivspalt war auf 0,1 mm Breite eingestellt, nur in den Ablesungen in Blau mußte er breiter genommen werden. Der Okularspalt, durch den der jeweils zu untersuchende Spektralbereich links und rechts abgegrenzt wird, wurde, da er an diesem Apparat leider nicht meßbar verstellbar ist, ein für allemal unverändert beibehalten, und zwar war er so eingestellt,

[1]) *P. Hári*, diese Zeitschr. **95**, 266, 1919.

daß der Spektralausschnitt bei 590 $\mu\mu$ herum etwa 12 $\mu\mu$, bei 480 $\mu\mu$ herum etwa 5 $\mu\mu$ breit gewesen ist. Als Lichtquelle diente eine Metallfadenglühlampe.

Zunächst soll durch die Schilderung einiger Umstände, die mir anfangs Schwierigkeiten machten, gezeigt werden, welche die Kautelen sind, ohne deren Einhaltung es überhaupt nicht möglich ist, an Permanganatlösungen exakte Bestimmungen auszuführen.

Die an den Seitenflächen mattgeätzten 19, 18, 15 und 10 mm hohen Glasklötze, die man in die 20 mm langen Beobachtungsröhren einsetzt, um Schichtendicken von 1, 2, 5 und 10 mm zu erlangen, bildeten die Quelle so mancher Unstimmigkeit. Denn läßt man, um viele Stunden lang sich hinziehende Reihenuntersuchungen auszuführen, die Permanganatlösung in der Röhre mit dem Glasklotz stehen, so tritt eine Bräunung der genannten matten Flächen der Klötze ein, zum Zeichen dessen, daß dort eine Ausscheidung von Mangandioxyd, daher eine Konzentrationsänderung der Lösung stattfindet. Als ich auf diese Fehlerquelle aufmerksam wurde, führte ich, um sie genauer kennenzulernen, in mehreren Versuchsreihen Ablesungen an verschiedenen Spektralstellen aus, wobei die Permanganatlösung bis zu 2 Tagen in der 20 mm langen Röhre mit dem 19 mm hohen Klotze belassen wurde (Tabelle I).

Tabelle I.

Nach dem Einfüllen der Lösung untersucht	Extinktionskoeffizient bei			
	529,6 $\mu\mu$	528,5 $\mu\mu$	527,5 $\mu\mu$	526,5 $\mu\mu$
Sofort	8,61	8,83	—	—
2 Stunden später . .	8,24	8,36	—	—
1 Tag später	7,72	7,90	—	—
Sofort	—	—	8,82	9,03
2 Stunden später . .	—	—	8,62	8,63
1 Tag später	—	—	8,09	—
Sofort	8,93	9,10	9,39	—
1 Tag später	8,60	8,93	9,10	—
2 Tage später . . .	8,04	8,27	8,53	—
Sofort	9,12	9,49	9,57	—
1 Tag später	8,33	8,48	8,65	—

Es ist den Daten der Tabelle I zu entnehmen, daß bereits nach 2 Stunden eine merkbare, nach 1 bis 2 Tagen aber eine ganz bedeutende Schwächung der Lichtextinktion infolge der Konzentrationsänderung der Permanganatlösung eintritt.

Also darf man diese nicht länger als höchstens ½ bis 1 Stunde lang in der Röhre belassen und muß, falls es sich um längere Reihenuntersuchungen handelt, nach Ablauf jener Zeit immer wieder frische

Lösung einfüllen, selbstredend, nachdem man Röhre und Glasklotz gereinigt hat. Um richtige, konstante Werte zu erhalten, muß diese Reinigung mit peinlichster Sorgfalt vorgenommen werden. Nachdem man zuletzt mit destilliertem Wasser gewaschen hat, darf keinesfalls mit einem Tuche abgewischt werden, denn es bleiben am Glase vom Tuche herrührende kleinste oxydable Partikelchen haften, die, wenn es sich um stark verdünnte Lösungen handelt, recht große Fehler verursachen können. Man läßt also das Wasser abtropfen und die Gläser an der Luft, vor Staub geschützt, trocknen.

Einmal im Besitz obiger Erfahrungen und unter Einhaltung der genannten Kautelen war es ein leichtes, fürderhin gut übereinstimmende Resultate zu erzielen. Des Beispiels halber seien einige solcher Bestimmungen hier angeführt (Tabelle II).

Tabelle II.

Untersucht am	Konzentration der Lösung g/Liter	Schichtdicke mm	Extinktionskoeffizient bei		
			625,5 $\mu\mu$	615,9 $\mu\mu$	607,0 $\mu\mu$
13. XII. 1922	0,4976	10	5,54	5,87	6,53
15. XII.			5,57	6,00	6,61
21. XII.			5,62	6,01	6,66
13. XII.	0,1244	50	5,52	6,07	6,63
15. XII.			5,41	5,95	6,64
21. XII.			5,61	5,99	6,62
20. XII.	0,04976	100	5,46	5,74	6,41
23. XII.			5,51	6,02	6,62

Durch obige Versuche ist nicht nur sichergestellt, daß man an Permanganatlösungen, wenn man sie in tagelangen Intervallen untersucht, stets denselben Wert wiederfindet, sondern es gehen aus ihnen auch zwei weitere wichtige Momente hervor. Erstens, daß mit zunehmender Verdünnung, die doch zu einer weiteren Dissoziation des gelösten Permanganats führen muß, eine Änderung in der Lichtabsorption der Lösung *nicht* stattfindet; zweitens, daß das *Beer*sche Gesetz auch hier streng gültig ist, indem die aus den verschiedenen Ablesungen für die Lichtabsorption berechneten Werte dieselben bleiben, auch wenn jene Ablesungen bei den verschiedensten Schichtdicken erfolgt sind.

Auf den erstgenannten Umstand wird bereits von *Hantzsch* und *Clark*[1]) aufmerksam gemacht, die für die molekulare Extinktion einer wässerigen Lösung bei 546 $\mu\mu$ beinahe identische Werte erhielten, nämlich 2311 bzw. 2303 bzw. 2298, wenn die Verdünnung der betreffenden Lösung 2000 bzw. 5000 bzw. 10000 betrug, worauf sie mit Recht

[1]) *A. Hantzsch* und *Robert H. Clark*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 63, 378, 1908.

folgerten: „Dissoziierte und undissoziierte Permangansäure oder das Ion MnO_4 und MnO_4H sind ebenfalls optisch identisch".

Dies geht auch aus nachstehenden drei Versuchsreihen hervor (Tabelle III), in denen eine Permanganatlösung auf das 2-, 10-, 40- und 100fache verdünnt wurde, also die Ablesungen an fünf verschieden konzentrierten Lösungen ausgeführt wurden.

Tabelle III.

Konzentration der Lösung	Schichtdicke	Extinktionskoeffizienten								
		Versuchsreihe a			Versuchsreihe b			Versuchsreihe c		
g/Liter	mm	625,5 μμ	615,9 μμ	607,0 μμ	625,5 μμ	615,9 μμ	607,0 μμ	625,5 μμ	615,9 μμ	607,0 μμ
4,976	1	5,54	5,90	6,52	5,57	5,90	6,59	5,62	5,97	6,59
2,488	2	5,62	5,94	6,54	5,45	5,83	6,57	5,48	5,94	6,57
0,4976	10	5,54	5,87	6,53	5,60	5,96	6,55	5,47	5,86	6,57
0,1244	50	5,52	6,07	6,63	5,55	5,97	6,55	5,53	5,95	6,59
0,04976	100	5,44	5,84	6,47	5,52	5,97	6,59	5,46	5,74	6,41

Nach den Ergebnissen der Tabelle III kann es also keinem Zweifel unterliegen, daß die Lichtabsorption verschieden konzentrierter, daher auch verschieden dissoziierter Permanganatlösungen, auf dieselbe Konzentration bezogen, dieselbe bleibt, eben weil in der Lichtabsorption des Manganations und des -moleküls, wie oben erwähnt, kein Unterschied besteht.

Obwohl nun aus der Variation der Schichtdicken in obiger Zusammenstellung auch die Gültigkeit des *Beer*schen Gesetzes hervorgeht, könnte diesbezüglich doch der Einwand erhoben werden, daß die Verhältnisse in obigen Versuchsreihen durch die gleichzeitige Variation der Konzentration kompliziert bzw. verdunkelt seien. Um auch diesem etwaigen Einwand zu begegnen, habe ich in nachfolgenden Versuchsreihen die Permanganatlösung stets in derselben Konzentration von 0,632 g/Liter verwendet und bloß die Schichtdicken variiert. Diese Versuche wurden an vier verschiedenen Spektralstellen ausgeführt und ihre Ergebnisse in Tabelle IV nach den Spektralstellen in vier Versuchsreihen gruppiert. Dabei sei bemerkt, daß die jeweils in eine Versuchsreihe zusammengefaßten Versuche zu verschiedenen Zeiten ausgeführt wurden, was auch daraus zu ersehen ist, daß die in den Stäben 3 und 4 angegebenen Winkelgrade α_1 und α_2 infolge der zu verschiedenen Zeiten verschiedenen intensiven Beleuchtung auch bei gleicher Schichtdicke verschieden waren: die aus diesen Winkelgraden berechneten Extinktionskoeffizienten waren natürlich dieselben geblieben. Im letzten Stabe der Tabelle IV habe ich innerhalb je einer Versuchsreihe die prozentuale Abweichung der in den einzelnen Versuchen erhaltenen Extinktionskoeffizienten von dem für diese Versuchsreihe berechneten Mittelwert angeführt. Aus diesem letzten Stabe ist

Tabelle IV.

Spektralbereich $\mu\mu$	Schichtdicke mm	α_1	α_2	Extinktionskoeffizient	Abweichung des Extinktionskoeffizienten vom Mittelwert Proz.
551,2	2	14° 13′	81° 46′	7,18	+ 0,7
	2	12 28	80 45	7,22	+ 0,7
	2	14 25	82 12	7,27	+ 1,4
	1	26 48	68 28	7,00	— 2,4
	1	26 22	68 52	7,18	+ 0,1
	1	29 39	71 27	7,19	+ 0,3
		Mittelwert . . .		**7,17**	**+ 0,08**
553,4	2	15° 45′	80° 19′	6,59	— 1,0
	2	13 46	79 45	6,77	+ 1,6
	10	26 57	66 49	6,62	— 0,6
		Mittelwert . . .		**6,66**	**± 0**
554,0	2	16° 55′	80° 06′	6,38	+ 0,2
	1	28 36	66 58	6,35	— 0,3
	1	27 51	66 30	6,39	+ 0,3
		Mittelwert . . .		**6,37**	**+ 0,07**
554,6	2	17° 07′	79° 43′	6,26	— 1,3
	2	15 04	78 21	6,28	— 0,1
	2	16 15	79 09	6,26	— 1,3
	1	29 00	66 39	6,21	— 2,1
	1	28 36	66 57	6,35	+ 0,2
	1	29 33	68 21	6,48	+ 2,2
	1	32 03	69 52	6,39	+ 1,0
		Mittelwert . . .		**6,34**	**— 0,2**

zu ersehen, daß die maximale Abweichung nicht mehr als etwas über 2 Proz. beträgt, und daß auch dieses Maximum bloß in drei von 22 Fällen erreicht wurde.

Da es durch obige Überlegungen und Untersuchungen erwiesen war, daß die durch Spektrophotometrie ermittelten Werte weder durch Verdünnung der Permanganatlösungen, noch aber durch Verwendung verschiedener Schichtdicken eine Änderung erfahren, konnte ich nunmehr daran gehen, die Extinktionskoeffizienten von Permanganatlösungen genau gekannter Konzentration zu bestimmen und aus diesen die Absorptionsverhältnisse zu berechnen. Die Konzentrationen wurden mittels oxalsauren Natriums festgestellt. Die Ergebnisse dieser Bestimmungen sind in Tabelle V zusammengestellt.

Die aus den molekularen Extinktionen berechneten Werte der Absorptionsverhältnisse lauten alsdann für:

625,5 $\mu\mu$	0,000898
618,2 $\mu\mu$	0,000840
607,0 $\mu\mu$	0,000760
565,0 $\mu\mu$	0,000121
537,4 $\mu\mu$	0,0000757

Tabelle V.

Spektralstelle $\mu\mu$	Konzentration g/Liter	Molekulare Extinktion	Spektralstelle $\mu\mu$	Konzentration g/Liter	Molekulare Extinktion
625,5	4,976	176, 177, 178	565,0	3,308	1305
	2,488	178, 173, 174		1,672	1306
	0,4976	176, 178, 174		2,246	1321
	0,1244	175, 176, 176		3,100	1305
	0,04976	173, 175, 172		4,976	1281
	Mittelwert = 176			Mittelwert = 1306	
618,2	4,976	187, 187, 189	537,4	3,308	2112
	2,488	189, 185, 189		1,672	2080
	0,4976	186, 189, 186		2,246	2088
	0,1244	193, 190, 190		3,100	2090
	0,04976	185, 189, 182		4,976	2069
	Mittelwert = 188			Mittelwert = 2088	
607,0	4,976	207, 209, 209			
	2,488	208, 209, 209			
	0,4976	207, 208, 209			
	0,1244	211, 208, 209			
	0,04976	205, 209, 204			
	Mittelwert = 208				

Die Stellen 625,5, 618,2 und 607,0 $\mu\mu$ dürften, da sie in Rot gelegen sind, wo die Lichtabsorption des Permanganats eine recht geringe ist, zu den Ablesungen besonders geeignet sein, wenn es sich um konzentriertere Lösungen handelt; die Stelle 565,0 $\mu\mu$ aus dem Grunde, weil sich hier die Lichtabsorption längs einer größeren Strecke kaum verändert[1]), daher die kaum zu vermeidenden, wenn auch geringen Fehler beim Einstellen des Spektrophotometers auf eine bestimmte Spektralstelle kaum ins Gewicht fallen; die Stelle 537,4 $\mu\mu$ endlich, weil erfahrungsgemäß in Grün am schärfsten abgelesen werden kann.

Daß die von mir festgestellten Absorptionsverhältnisse von den von *Vierordt*[2]) und später von *Krüss*[3]) mitgeteilten sehr erheblich abweichen, dürfte von der Unvollkommenheit der von den genannten Autoren vor 50 bzw. 40 Jahren verwendeten *Vierordt*schen Apparate herrühren.

Diese Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung des Herrn Prof. *Hári* ausgeführt.

---

[1]) Siehe meine folgende Mitteilung.

[2]) *Karl Vierordt*, Die Anwendung des Spektralapparates usw., S. 101. Tübingen 1873.

[3]) *Gerhard Krüss*, Ber. d. deutsch. chem. Ges. 18, 1580. 1885.

Über die Unstimmigkeit in der Lage eines spektroskopisch und spektrophotometrisch bestimmten Absorptionsmaximums.

Von

Helene Gombos.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der königl. ung. Universität Budapest.)

(Eingegangen am 8. Juli 1924.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Anläßlich der Bestimmung des Absorptionsverhältnisses des Kaliumpermanganats in wässeriger Lösung an gewissen Stellen des Spektrums, welcher Frage die vorangehend mitgeteilte Arbeit[1]) gewidmet war, habe ich die Lichtextinktion einer Lösung von genau bekannter Konzentration nicht bloß an den dort erwähnten Spektralstellen, sondern in kurzen Rauminterventallen auch längs einer möglichst langen Strecke des sichtbaren Spektrums bestimmt. Und zwar tat ich dies aus dem Grunde, um zu erfahren, ob die fünf Absorptionsmaxima sich nach meinen Ablesungen an denselben Stellen befinden, die von vorangehenden Autoren angegeben wurden, und auf diese Weise die Richtigkeit meiner Befunde zu kontrollieren.

Der Apparat, an dem diese Bestimmungen ausgeführt wurden, war ein genau justiertes und kalibriertes[2]), nach *Martens* und *Grünbaum* modifiziertes *König*sches Spektrophotometer (große Beleuchtungsvorrichtung). Als Lichtquelle diente eine Metallfadenglühlampe. Der Objektivspalt war 0,10 mm breit, nur bei den Ablesungen in Blau mußte er breiter genommen werden. Der Okularspalt war ein für allemal auf eine gewisse Breite eingestellt: am roten Spektralende umfaßte er einen Spektralausschnitt von etwa 15 $\mu\mu$ Breite, am blauen Ende einen solchen von 5 $\mu\mu$. Über die Kautelen, die beim Arbeiten mit Permanganatlösungen geboten sind, siehe meine vorangehende Arbeit.

Ich verfüge über zwei vollständige Ablesungsreihen und über eine dritte, in der nur an gewissen wichtigeren Stellen abgelesen wurde. Alle Beobachtungen wurden an entsprechenden Verdünnungen einer 4,976 g Kaliumpermanganat pro Liter enthaltenden Stammlösung ausgeführt, deren Konzentration mittels Natriumoxalats festgestellt ward.

---

[1]) Diese Zeitschr. **151**, 1, 1924.

[2]) *P. Hári*, ebendaselbst **95**, 266, 1919.

In Versuchsreihe 1 wurde, sobald es die starke Zunahme der Lichtabsorption erheischte, sowohl die Konzentration der Lösung, wie auch deren Schichtdicke geändert; in Versuchsreihen 2 und 3 bloß die Schichtdicken.

Die Extinktionskoeffizienten wurden des besseren Vergleiches halber in den Versuchsreihen 1 und 3 auf die in Versuchsreihe 2 durchwegs angewendete Konzentration von 0,1244 g/Liter umgerechnet. Die Daten der Versuche sind in Tabelle I zusammengestellt.

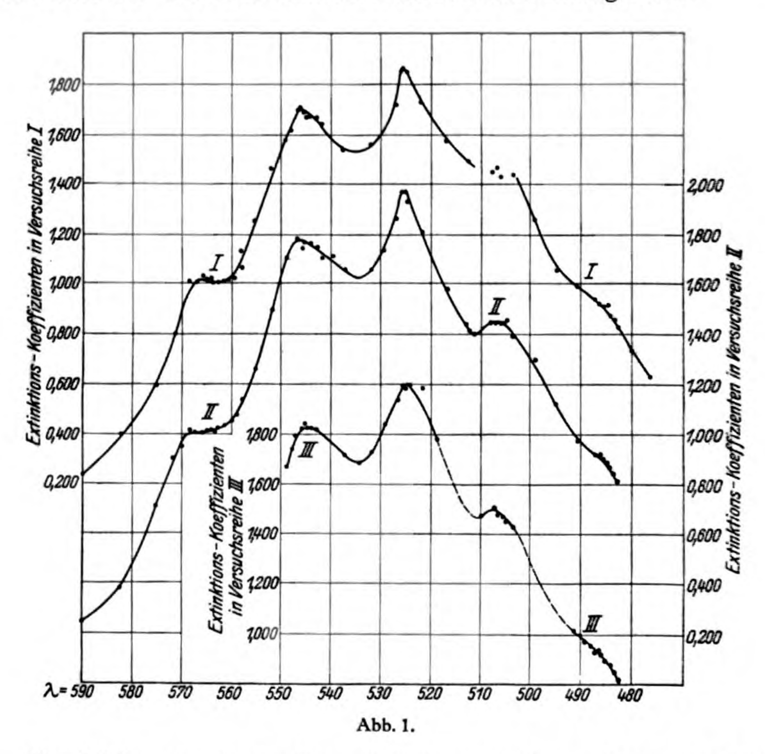


Abb. 1.

Vergleicht man die in dieser Tabelle enthaltenen Daten bezüglich der Größe der Extinktionskoeffizienten in den drei Versuchsreihen, so wird man mit Ausnahme des zwischen 549 und 527 $\mu\mu$ gelegenen Spektralgebietes, wo Divergenzen bis über 10 Proz. bestehen, eine recht gute Übereinstimmung der beiden Werte, bzw. finden, daß an solchen Stellen, wo Daten von drei Versuchsreihen vorliegen, wenigstens zwei von den drei Werten übereinstimmen.

Wichtiger als die Größe der Extinktionskoeffizienten ist für uns hier die Frage, wieweit die Lage der Absorptionsmaxima in den drei Versuchsreihen übereinstimmt. Infolge der auch beim genauesten Arbeiten kaum zu vermeidenden spektrophotometrischen Ablesungs-

Tabelle I.

Spektralstelle	Versuchsreihe 1			Versuchsreihe 2			Versuchsreihe 3		
	Konzentration	Schichtdicke	ε bezogen auf $c = 0{,}1244$ g/Liter	Konzentration	Schichtdicke	ε bezogen auf $c = 0{,}1244$ g/Liter	Konzentration	Schichtdicke	ε bezogen auf $c = 0{,}1244$ g/Liter
μμ	g/Liter	mm		g/Liter	mm		g/Liter	mm	
590,3	4,976	1	0,233	0,1244	20	0,240	—	—	—
582,5	0,04976	20	0,380	0,1244	20	0,375	—	—	—
576,2	0,04976	20	0,692	0,1244	20	0,705	—	—	—
572,0	0,04976	20	0,790	0,1244	20	0,897	—	—	—
570,2	—	—	—	0,1244	5	0,936	—	—	—
568,5	0,04976	20	1,013	0,1244	10	1,014	—	—	—
567,1	0,04976	10	1,010	0,1244	10	1,002	—	—	—
565,7	0,04976	10	1,031	0,1244	10	1,006	—	—	—
565,0	0,04976	10	1,022	0,1244	10	1,009	—	—	—
564,3	0,04976	10	1,020	0,1244	10	1,014	—	—	—
563,6	0,04976	10	1,003	0,1244	10	1,011	—	—	—
662,9	0,04976	10	1,004	0,1244	10	1,017	—	—	—
561,5	0,04976	10	1,014	0,1244	10	1,032	—	—	—
560,1	0,04976	10	1,016	0,1244	10	1,050	—	—	—
558,9	0,04976	10	1,033	0,1244	10	1,078	—	—	—
558,3	0,04976	20	1,141	0,1244	10	1,144	—	—	—
557,7	0,04976	10	1,068	—	—	—	—	—	—
555,2	0,04976	20	1,260	0,1244	10	1,266	—	—	—
552,2	0,04976	10	1,467	0,1244	5	1,497	—	—	—
549,2	0,04976	10	1,578	0,1244	5	1,705	0,04976	20	1,672
547,9	0,04976	10	1,617	0,1244	5	1,745	0,04976	20	1,740
546,7	0,04976	10	1,699	0,1244	5	1,792	0,04976	20	1,790
546,0	0,04976	10	1,709	0,1244	5	1,750	0,04976	20	1,819
545,5	0,04976	10	1,692	0,1244	5	1,767	0,04976	20	1,837
544,9	0,04976	10	1,673	0,1244	5	1,777	0,04976	20	1,822
544,3	0,04976	10	1,676	0,1244	5	1,772	0,04976	20	1,829
543,1	0,04976	10	1,670	0,1244	5	1,754	0,04976	20	1,824
541,8	0,04976	10	1,647	0,1244	5	1,710	—	—	—
539,6	—	—	—	0,1244	5	1,718	—	—	—
537,4	0,1244	2	1,534	0,1244	5	1,660	0,04976	20	1,718
534,5	—	—	—	—	—	—	0,04976	20	1,685
532,2	0,1244	2	1,566	0,1244	5	1,660	0,04976	20	1,730
529,6	0,1244	2	—	0,1244	5	1,736	0,04976	20	1,839
527,0	0,1244	2	1,718	0,1244	5	1,864	0,04976	20	1,940
525,9	0,1244	2	1,860	0,1244	5	1,972	0,04976	20	1,994
525,4	0,1244	2	1,871	0,1244	5	1,975	0,04976	20	1,992
524,9	0,1244	2	1,855	0,1244	5	1,933	0,04976	20	1,987
521,8	0,1244	2	1,731	0,1244	5	1,814	0,04976	20	1,895
519,2	—	—	—	—	—	—	0,04976	20	1,780
516,9	0,1244	2	1,577	0,1244	5	1,579	—	—	—
513,3	—	—	—	0,1244	5	1,439	—	—	—
512,4	0,04976	10	1,488	0,1244	5	1,417	—	—	—
511,5	—	—	—	0,1244	5	1,401	—	—	—
510,0	—	—	—	—	—	—	0,04976	22	1,484
507,5	0,04976	10	1,453	0,1244	5	1,454	0,04976	22	1,513
506,7	0,04976	10	1,473	0,1244	5	1,449	0,04976	22	1,483
505,9	0,04976	10	1,430	0,1244	5	1,451	0,04976	22	1,479
505,5	—	—	—	0,1244	5	1,454	0,04976	22	1,477
505,1	—	—	—	0,1244	5	1,467	0,04976	22	1,457
503,5	0,1244	5	1,439	0,1244	5	1,390	0,04976	22	1,437

Tabelle I (Fortsetzung).

Spektralstelle	Versuchsreihe 1			Versuchsreihe 2			Versuchsreihe 3		
	Konzentration	Schichtdicke	ε bezogen auf c = 0,1244 g/Liter	Konzentration	Schichtdicke	ε bezogen auf c = 0,1244 g/Liter	Konzentration	Schichtdicke	ε bezogen auf c = 0,1244 g/Liter
μμ	g/Liter	mm		g/Liter	mm		g/Liter	mm	
499,3	0,1244	5	1,267	0,1244	5	1,300	—	—	—
495,1	0,1244	5	1,057	0,1244	5	1,126	—	—	—
491,1	0,1244	5	0,988	0,1244	10	0,978	0,04976	32	1,013
490,2	—	—	—	—	—	—	0,04976	32	1,007
489,2	—	—	—	—	—	—	0,04976	32	0,983
488,2	—	—	—	—	—	—	0,04976	32	0,968
487,3	0,1244	5	0,939	0,1244	10	0,923	0,04976	32	0,945
486,6	0,1244	5	0,921	0,1244	10	0,922	0,04976	32	0,951
485,8	0,1244	5	0,915	0,1244	10	0,899	0,04976	32	0,929
485,0	0,1244	5	0,924	0,1244	10	0,884	0,04976	32	0,911
484,4	0,1244	5	0,868	0,1244	10	0,867	0,04976	32	0,891
485,7	0,1244	5	0,838	0,1244	10	0,842	0,04976	32	0,866
483,0	0,1244	5	0,839	0,1244	10	0,811	0,04976	32	0,833
480,0	0,1244	5	0,736	—	—	—	—	—	—
476,6	0,1244	5	0,627	—	—	—	—	—	—
473,2	0,1244	5	0,587	—	—	—	—	—	—
471,9	0,1244	5	0,559	—	—	—	—	—	—
466,8	0,1244	5	0,532	—	—	—	—	—	—
463,9	0,1244	5	0,476	—	—	—	—	—	—

fehler geht es nicht gut an, aus einer Reihe von Zahlen, die man für ein Gebiet stärkerer Absorption erhalten hat, die höchste herauszugreifen und diese Stelle als die der maximalen Absorption zu bezeichnen. Wie in vielen anderen Fällen, erhält man auch hier mit Hilfe der graphischen Darstellung weit richtigere Werte. Ich habe daher die in den drei Versuchsreihen erhaltenen Extinktionskoeffizienten als Ordinaten in ein Koordinatensystem aufgetragen, auf dessen Abszissenachse die Wellenlängen verzeichnet waren (Abb. 1).

Über die Lage der Absorptionsmaxima ist den Kurven folgendes zu entnehmen: Für den zweiten, dritten und vierten Streifen ergeben sich ohne weiteres die Maxima, die in der weiter unten befindlichen Zusammenstellung ersichtlich sind; dem fünften Streifen, der bei der spektroskopischen Prüfung recht deutlich zu sehen ist, liegt nach der spektrophotometrischen Bestimmung kein eigentliches Absorptionsmaximum zugrunde, sondern bloß eine leise buckelförmige, mit der Konvexität nach aufwärts gerichtete Krümmung der Kurve. Dieser Buckel ist in Versuchsreihe 1, in der die Ablesungen bis über 480 μμ fortgesetzt werden konnten, seiner Gänze nach, in den beiden anderen Versuchsreihen wenigstens in seinem Anfange deutlich zu sehen; auf jeden Fall ist aber festzustellen, daß seine Mitte in Versuchsreihe 1 annähernd bei etwa 485 μμ gelegen ist.

Ganz eigentümlich verhalten sich die Kurven in der Gegend, in der man bei der spektroskopischen Prüfung den ersten Streifen immer

deutlich sieht. An den Kurven ist hier kein eigentliches Maximum vorhanden, sondern eine Art Plateau, das in Versuchsreihe 1 annähernd horizontal, in Versuchsreihe 2 leicht nach oben geneigt violettwärts verläuft. Sofern hier von einem Maximum überhaupt die Rede sein kann, da man ja nur die Mitte des Plateaus feststellen kann, liegt diese bei 564 bzw. 565 $\mu\mu$.

Wie aus den Kurven 1, 2 und 3 festzustellen, ist die Lage der Absorptionsmaxima die folgende:

	1. Streifen $\mu\mu$	2. Streifen $\mu\mu$	3. Streifen $\mu\mu$	4. Streifen $\mu\mu$	5. Streifen $\mu\mu$
Versuchsreihe 1	564	546,5	525,5	—	485
„ 2	565	547,0	525,5	507,5	—
„ 3	—	545,5	525,5	507,5	—
Mittelwerte	**564,5**	**546,8**	**525,5**	**507,5**	**485**

Um die Richtigkeit dieser Werte zu kontrollieren, wurde die Lage der Maxima auch spektroskopisch, und zwar von verschiedenen Beobachtern des Institutes zu verschiedenen Zeiten bestimmt. Zu diesen Bestimmungen dienten ein im Institut befindliches genau kalibriertes Prismenspektroskop, in *einem* Falle ein im chemischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Budapest befindliches Gitterspektroskop, für dessen Benutzung Herrn Prof. *Julius Gróh* auch an dieser Stelle aufrichtigster Dank ausgesprochen sei. Wie aus nachstehender Zusammenstellung ersichtlich, stimmten die am Prismenspektroskop (P.-S.) und am Gitterspektroskop (G.-S.) abgelesenen Werte miteinander gut überein.

	1. Streifen $\mu\mu$	2. Streifen $\mu\mu$	3. Streifen $\mu\mu$	4. Streifen $\mu\mu$	5. Streifen $\mu\mu$
Kajdi (P.-Sp.)	573,5	547,9	528,1	506,5	488,7
„ „	573,5	547,9	525,9	506,5	488,8
Kémeri „	573,6	547,8	525,3	505,4	487,5
„ (G.-Sp.)	572,1	548,0	526,2	505,8	—
Hári (P.-Sp.)	572,4	549,5	526,8	506,7	487,4
Mittelwerte	**573,0**	**448,4**	**526,5**	**506,2**	**488,1**

Wie aus dem Vergleich der beiden Zusammenstellungen hervorgeht, stimmen die nach beiden Methoden (spektroskopisch und spektrophotometrisch) bestimmten Werte am dritten und am vierten Streifen sehr gut überein; die Lage des fünften Maximums konnte spektrophotometrisch bloß in einer einzigen Versuchsreihe und, wie oben erwähnt, auch hier nur annähernd bestimmt werden. Was jedoch für uns von großem Interesse ist und den eigentlichen Anlaß zu dieser Mitteilung gab, *besteht eine grobe Unstimmigkeit bezüglich der Lage des Maximums am ersten Streifen* (eine geringere am zweiten Streifen).

An einen Kalibrierungsfehler der Orientierungsskala des Prismenspektroskops konnte aus dem Grunde nicht gedacht werden, da ja

die mittels des Gitterspektroskops erhobenen Befunde annährend dieselben waren und auch mit den von *Hantzsch*[1]) mitgeteilten, ja sogar mit den alten *Vierordt*schen[2]), die alle *spektroskopisch* erhoben wurden, recht gut übereinstimmten:

	1. Streifen $\mu\mu$	2. Streifen $\mu\mu$	3. Streifen $\mu\mu$	4. Streifen $\mu\mu$	5. Streifen $\mu\mu$
Hantzsch (20° C)	571,5	547,0	524,8	505,6	487,7
Vierordt	575,4	548,6	527,0	505,4	489,8

Am Spektrophotometer konnte der Fehler auch nicht liegen, da es seinerzeit sehr genau justiert und kalibriert und die Richtigkeit der Justierung und Kalibrierung im Laufe der Zeit wiederholt kontrolliert wurde. Trotzdem hat es sich als zweckmäßig erwiesen, die Ablesungen längs der fraglichen Strecke, zwischen 580 und 549 $\mu\mu$, einerseits an demselben Spektrophotometer durch andere Beobachter, andererseits an einem anderen im Institut befindlichen Apparat, einem alten *König*schen, ebenfalls genau justierten und kalibrierten[3]) Spektrophotometer wiederholen zu lassen.

Alle so erhaltenen Werte sind mitsamt den von mir in Versuchsreihen 1 und 2 erhaltenen in nachfolgender Tabelle II zusammengestellt, und zwar habe ich, um auch die quantitative Übereinstimmung aller Werte zu dokumentieren, *meine* Werte auf die in den übrigen Versuchsreihen verwendete Konzentration n/400 umgerechnet. Die Mittelwerte aller Versuche sind im letzten Stabe der Tabelle II enthalten, außerdem auch in Form einer Kurve in Abb. 2 dargestellt.

Diese Kurve zeigt einen Verlauf ganz ähnlich bzw. beinahe identisch mit dem der Kurven in meinen Versuchsreihen 1 und 2. Auch in einer von *Pulfrich*[4]) mit Hilfe eines *Glan*schen Spektrophotometers bei einem Okularspalt von etwa 5 $\mu\mu$ Breite ausgeführten Versuchsreihe war der Verlauf der Lichtabsorptionskurve ein ganz ähnlicher. Von den von *Pulfrich* erhaltenen Extinktionskoeffizienten führe ich nur diejenigen an, die sich auf den uns hier interessierenden Meßbereich zwischen 590 und 550 $\mu\mu$ beziehen:

588,9 $\mu\mu$	0,0065	563,0 $\mu\mu$	0,0276
575,5 $\mu\mu$	0,0206	556,0 $\mu\mu$	0,0361
570,5 $\mu\mu$	0,0259	551,4 $\mu\mu$	0,0418

[1]) *A. Hantzsch*, Zeitschr. f. physikal. Chem. 72, 375, 1910.

[2]) *Karl Vierordt*. Die Anwendung des Spektralapparates usw., S. 100. Tübingen 1873. *Vierordts* Originaldaten sind in der alten Ausdrucksweise (Einteilung des Intervalls zwischen je zwei *Fraunhofer*schen Hauptlinien in 100 Teile) angegeben. Diese Daten habe ich nach desselben Autors Tabelle (in seinem Werke: Die quantitative Spektralanalyse usw., S. 104. Tübingen 1876) in Wellenlängen umgerechnet.

[3]) *P. Hári*, diese Zeitschr. 82, 229, 1917.

[4]) *Carl Pulfrich*, Wiedemanns Ann. 14, 188, 1881.

Tabelle II.

μμ	*König-Martens-Grünbaum*sches Spektrophotometer						Alt. *König*sches Spektrophotometer. Beobachter *Scheff.* Juni 1924. Konz. = n/400	Mittelwerte
	Beobachter *Gombos.* Winter 1922. Konz. = 0,1244 g pro Liter. Werte umgerechnet auf Konz. = n/400		Beobachter *Härt.* April 1924. Konz. = n/400	Beobachter *M. v. Havas.* Mai 1924. Konz. = n/400				
590,3	0,148	0,152	—	—	—	—	—	0,150
582,5	0,253	0,238	—	—	—	—	—	0,245
579,7	—	—	—	0,305	0,298	0,305	—	0,303
575,5	0,438	0,448	—	0,428	0,421	0,428	—	0,433
572,0	0,501	0,569	—	—	—	—	—	0,535
571,3	—	—	—	0,564	0,556	0,561	—	0,560
570,2	—	0,594	—	—	—	—	—	0,594
568,5	0,643	0,644	0,621	0,637	0,614	0,624	0,603	0,624
567,1	0,641	0,636	0,630	0,642	—	0,641	—	0,638
565,7	0,655	0,639	0,648	0,656	0,647	0,654	—	0,650
565,0	0,649	0,641	—	—	—	—	0,654	0,648
564,3	0,648	0,644	0,668	0,667	0,651	0,668	—	0,658
563,6	0,637	0,642	—	—	—	—	—	0,640
562,9	0,635	0,646	0,673	0,667	0,660	0,674	0,675	0,661
561,5	0,644	0,655	0,682	0,668	0,666	0,676	—	0,665
560,1	0,645	0,667	0,705	0,683	0,690	0,687	0,718	0,685
558,9	0,656	0,684	0,707	0,687	0,688	0,709	—	0,689
558,3	0,724	0,726	—	—	—	—	—	0,725
557,7	—	—	—	0,730	0,708	0,730	—	0,723
555,2	0,800	0,804	—	0,762	0,737	0,878	—	0,796
552,8	—	—	—	0,851	0,806	0,924	—	0,860
552,2	0,931	0,950	—	—	—	—	0,934	0,938
550,4	—	—	—	0,931	0,903	0,978	—	0,937
549,2	1,002	1,082	—	—	—	—	1,017	1,031

Diese Daten habe ich, um sie mit meinen in Tabelle II enthaltenen vergleichen zu können, 25fach vergrößert in Abb. 2 eingetragen. Die beiden Kurven laufen, von ihrem Anfangsteil abgesehen, einander annähernd parallel.

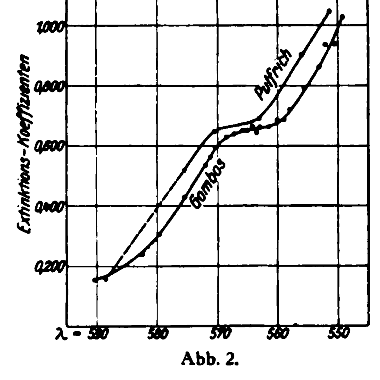


Abb. 2.

Von einem Absorptionsmaximum *bei etwa 573 μμ ist in keiner der beiden Kurven etwas zu sehen.* Es kann sich also bezüglich des obigen sonderbaren Befundes weder um einen Beobachtungsfehler, noch aber um einen Fehler in den Apparaten handeln.

Auf die Unstimmigkeit der aus der Literatur bekannten einschlägigen Daten weist schon *Kayser*[1]) in folgenden Worten hin: „Trotz der vielen Untersuchungen ist die Lage namentlich der ersten Bänder, nichts weniger als einwandfrei bekannt, ...“, und

[1]) *Kayser*, Handb. d. Spektroskopie **3**, 415.

ist es möglich, daß die Unstimmigkeiten, die aus *Kaysers* tabellarischer Zusammenstellung ersichtlich sind, gerade darauf beruhen, daß die Maxima von *einem* Autor spektroskopisch, vom *anderen* spektrophotometrisch bestimmt wurden. Leider sind mir die meisten der von *Kayser* angeführten Daten im Original nicht zugänglich gewesen, und auch die Referate enthalten nur magere Auskunft über die angewandte Methodik.

Wie dem immer sei, ist durch meine obigen Ausführungen bewiesen, daß die *spektroskopische und spektrophotometrische Bestimmung eines Absorptionsmaximums keine identischen Werte liefern müssen*; ja daß dieselben sogar sehr erheblich voneinander verschieden sein können. Auf die Ursachen dieser Unstimmigkeit, die sich wahrscheinlich nicht auf das Permanganatspektrum allein bezieht, und die vielleicht physiologisch-optischer Natur sind, will ich nicht eingehen.

Diese Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung des Herrn Prof. *P. Hári* ausgeführt.

Am Vorabend der beabsichtigten Absendung dieses Manuskripts erhielt ich Kenntnis von einer als Sitzungsbericht erschienenen Mitteilung *Fr. Weigerts*[1]), in der die von mir als neu hingestellte Beobachtung nicht nur beschrieben, sondern auch ausführlich begründet ist; und zwar unter anderem auch bezüglich des Kaliumpermanganats. Nach *Weigert* gibt es reelle Absorptionsmaxima, die spektroskopisch und spektrophotometrisch an derselben Stelle gefunden werden, so z. B. am Permanganat die Stellen 547, 525 und vielleicht auch 488 $\mu\mu$; dann die sogenannten *Kontrast*- oder *physiologischen* Banden, wie z. B. der erste Permanganatstreifen, die spektroskopisch sichtbar sind und auch photographisch dargestellt werden können, die jedoch keine wirklichen Absorptionsmaxima sind, sondern nur durch Unstetigkeiten der Helligkeitsverteilung im Spektrum erzeugt werden. Daneben spielen aber auch die verschiedene Helligkeitsempfindung des normalen Auges für die verschiedenen Spektralfarben sowie das Energiespektrum der verwendeten Lichtquelle eine wichtige Rolle.

Durch diesen Umstand büßt meine Mitteilung zwar den Wert der Neuheit ein; doch kann sie infolge der zahlreichen zahlenmäßigen Belege zur Unterstützung der *Weigert*schen Befunde nützlich sein.

---

[1]) *Fritz Weigert*, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **49**, 1496, 1916.

Über Veränderungen der H-Ionenkonzentration in den Bakterienkulturen und ihr Entstehungsmechanismus.

Von

Stanisław Sierakowski.

(Aus dem staatlichen Institut für Hygiene in Warschau.)

(Eingegangen am 21. Juni 1924.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die Art der Bestimmung der H-Ionenkonzentration spielt bei den physiologischen und pathologischen Untersuchungen eine bedeutende Rolle. Es ist wohl bekannt, daß die Fermente nur bei bestimmter H-Konzentration ihre Wirkung entfalten können, und daß eine ungünstige Konzentration nicht bloß ihre Tätigkeit schädigt, sondern manchmal zur Vernichtung führt. Es ist auch bekannt, daß die Mikroorganismen sich nur bei gewissem H-Gehalt entwickeln können, und daß verschiedene Bakterienarten große individuelle Unterschiede in dieser Beziehung aufweisen. Es ist auch nachgewiesen worden, daß das Blut der Menschen und höherer Tiere eine bestimmte und konstante H-Ionenkonzentration enthält, die in feinster Weise reguliert wird.

Der Zweck unserer Untersuchungen war, die eventuellen Veränderungen im H-Gehalt der Bakterienkulturen festzustellen. Die Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt: Nach Sterilisierung des Nährbodens[1]) wurden verschiedene Bakterienarten geimpft, in den Thermostaten gebracht und p_H in gewissen Zeitintervallen mittels kolorimetrischer Methode bestimmt.

Die Abb. 1 stellt die Veränderungen im p_H-Gehalt der Kolikulten dar.

Das Protokoll zeigt folgendes: *Abb. 1.* 1. Der Nährboden vom $p_H = 7{,}6$ weist während der ersten 3 Tage keine Veränderungen auf. 2. Die Nährmedien vom $p_H = 8{,}0$ bis 8,5 werden angesäuert bis auf $p_H = 7{,}7$. In den alkalischen Nährböden vom $p_H = 9{,}1$ und 9,5 erreicht der Säuregehalt nicht $p_H = 7{,}7$, sondern kaum $p_H = 8{,}4$. 3. Die neutralen und

[1]) Der Nährboden bestand aus Fleischextrakt mit 1 Proz. Pepton, 0,5 Proz. NaCl, notwendiger Menge HCl bzw. NaOH und dem entsprechenden Indikator.

sauren Nährmedien von kleinerem p_H als 7,6 werden alkalisiert, wobei *die Alkalisierung desto später eintritt, je saurer der Nährboden ist.* 4. Die ganz sauren Nährböden vom $p_H = 5$ weisen überhaupt keine Veränderungen im p_H-Gehalt auf.

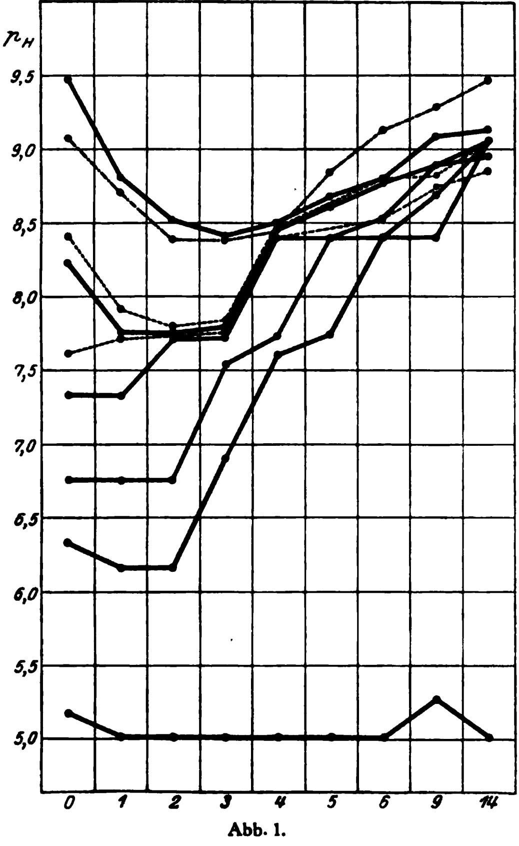


Abb. 1.

Nach Verlauf von 3 Tagen folgt die zweite Veränderungsphase: *Alle Nährböden, mit Ausnahme der sauersten, werden alkalisiert, so daß nach 14 Tagen alle Kulturen denselben p_H-Gehalt, 8,9 bis 9,5, erreichen,* unabhängig davon, welche p_H-Konzentration der Nährboden zuvor enthielt.

Wir sehen somit, daß die p_H der Bakterienkulturen großen Veränderungen ausgesetzt ist, und daß man hierbei zwei Phasen unterscheiden kann. Die erste Phase, die verhältnismäßig kurz (ungefähr 3 Tage) andauert, ist dadurch charakterisiert, daß die Nährmedien, die sich in der Nähe des neutralen Punktes befinden, unverändert verbleiben, die alkalischen werden ausgesäuert, und die sauren alkalisiert. In der ersten Phase scheint also die p_H einem gewissen Punkt zuzustreben, der z. B. für Bact. coli 7,7 beträgt.

In der zweiten Phase werden alle Kulturen alkalisiert, wobei nach gewissem Zeitablauf *alle Nährmedien, sowohl die primär sauren wie die alkalischen, ungefähr dieselbe p_H erreichen.* Diese Veränderungen sind nur solchen Nährböden eigen, die keinen Zucker enthalten.

Außer Bac. coli haben wir auf demselben Nährboden und in denselben Verhältnissen auch andere Bakterien untersucht. Choleravibrionen erwiesen während der ersten Phase (p_H-Gehalt des Nährbodens nach 2 bis 3 Tagen) $p_H = 7,7$; ähnlich wie Bact. coli; und in der zweiten Phase $p_H = 9,2$ bis 10,3. Die Typhus-, Para A-, B- und C-Bakterien wiesen in der ersten Phase $p_H = 7,1$ bis 7,2, und in der zweiten $p_H = 8,5$ bis 9 auf. Die Dysenteriestäbchen Shiga-Kruse gaben in der ersten Phase $p_H = 6,8$, in der zweiten $p_H = 8,5$ bis 8,7.

Man hat den Eindruck, als ob die Bakterien während der ersten Tage den p_H-Gehalt des Nährbodens regulierten. Über diese Ergebnisse haben

wir schon im Jahre 1921 im „Przeglad Epidemjologiczny", Band I, Heft 6, mitgeteilt. Im Jahre 1922 haben *Abt* und *Loiseau* ähnliche Veränderungen im p_H-Gehalt der Diphtheriekulturen beschrieben. Der Punkt, den diese Bazillen während der ersten Tage zu erreichen „suchen", war 7,2. Analoge Veränderungen in den Staphylokokkenkulturen beschrieb *Walbum* im Jahre 1922.

Wie wir zeigen werden, ändert sich der erste Punkt, dem die Bakterien „zustreben", für die betreffende Bakterienart in Abhängigkeit von verschiedenen Bedingungen; der zweite Punkt, den die älteren Bakterienkulturen erreichen, ist ziemlich konstant. Um zu untersuchen, in welcher Weise verschiedene Bakterienarten ihre Nährmedien alkalisieren, haben wir den p_H-Gehalt 16tägiger Bouillonkulturen bei verschiedenen Bakterienarten bestimmt. Die p_H-Konzentration betrug zuvor 7,6; die Nährbodenschicht = 1 cm. Die Ergebnisse der Versuche bei vorhandenem Luftzutritt sind in Tabelle I dargestellt.

Tabelle I.

Die H-Ionenkonzentration in alten Bouillonkulturen.

Name der Mikroorganismen	p_H
Hefe	9,1
Typhusbazillen	9,3
Paratyphus A	9,0
„ B	9,2
„ C	9,3
Bacterium coli	9,1
Dysenteriebazillen Shiga-Kruse	9,2
„ Flexner	8,9
„ Y	9,0
Choleravibrio	9,2
Choleraähnliches vibrio aus dem Wasser	9,2
„ „ „ „ Stuhl	9,2
„ „ „ „ „	9,3
Bac. Pyocyaneus	8,8
„ Proteus	9,0
„ Prodigiosus	8,7
Diphtheriebazillen	9,0
Pseudodiphtheriebazillen	8,8
Staphylokokken	8,7
B. rubri Zimmerman	8,8

Es geht aus dieser Tabelle hervor, daß sowohl die Hefe, wie alle untersuchten Bakterienarten ihre Nährmedien alkalisiert haben. *Adam* gibt an, daß Bact. bifidus in einem zuckerhaltigen Nährboden (p_H = 7,5) so lange spärlich wächst, bis infolge der Zuckerfermentation der p_H-Gehalt auf 5,9 gesunken ist. Erst dann wird das Wachstum intensiv, aber infolge fortschreitender Säurebildung werden die Lebensverhältnisse für Bact. bifidus wieder ungünstig. In solcher Weise schafft nach der Meinung *Adams* dieser Mikroorganismus selbst das Optimum für seine Lebensvorgänge. *Adam* nennt den p_H-Gehalt, bei welchem sich die Lebensprozesse der betreffenden Bakterienart am besten vollziehen, die Eigenwasserstoffzahl.

Es ist noch bis jetzt unbekannt, worauf die Alkalisierung der Nährböden beruht. *Abt* und *Loiseau* meinen, daß während des Bakterienwachstums

Ammoniak ausgeschieden wird, welcher die Alkalisierung des Nährmediums bewirkt. Die Versuche dieser Autoren haben zwar eine Vermehrung des Ammoniaks nachgewiesen, aber sie scheint nicht groß genug zu sein, um eine so bedeutende Alkaleszenz des Nährbodens zu bewirken. Manche Forscher glauben, daß die Alkalisierung von der Gegenwart der Stickstoffamine abhängig wäre. Die Untersuchungen von *Kendal* und seiner Mitarbeiter haben erwiesen, daß der Aminostickstoffgehalt in alten Kulturen ganz unbedeutend ansteigt. *Dernby* fand jedoch, daß in den Diphtheriekulturen der Aminostickstoffgehalt parallel mit den p_H-Veränderungen ansteigt.

Während wir unsere Untersuchungen durchführten, haben wir bemerkt, daß die Nährbodenalkalisierung in großem Maße von der Anwesenheit der sogenannten Puffersubstanzen, welche Alkalien binden, abhängig ist.

Wir konnten feststellen, daß Bact. coli den fünffach konzentrierten Fleischextrakt nach 20 Tagen bis auf $p_H = 8,4$ alkalisiert hat. Die zweifache Konzentration erreichte diese Alkaleszenz nach Verlauf von 13 Tagen und 0,1fache Konzentration nach 6 Tagen.

Es muß aber betont werden, daß der p_H-Gehalt im Nährboden von selbst, auch bei Bakterienabwesenheit, sich ändert; diese Veränderungen sind aber im Vergleich zu denen, die unter dem Einfluß der Bakterien entstehen, so minimal ($p_H = 0,2$ bis 0,3), daß sie kaum in Betracht genommen werden können.

Nachdem wir die Veränderungen im p_H-Gehalt der Bakterienkulturen festgestellt haben, schien uns die Frage wichtig, ob und was für ein Zusammenhang zwischen diesem Phänomen und dem Bakterienwachstum existiere. Um diese Frage zu lösen, haben wir gleichzeitig die p_H und die Zahl der lebensfähigen Keime in den Kolikulturen und den nephelometrischen Titer, d. h. den Grad der Kulturtrübung, bestimmt.

Die Zahl der entwicklungsfähigen Bakterien haben wir in folgender Weise bestimmt: Nach Aufschütteln der Kulturen wurde eine Öse in 1 ccm Bouillon gebracht, dann wieder nach Durchmischen eine Öse der Bouillonkultur auf 15 ccm Nähragar geimpft und nach Abkühlen bis auf 45° auf eine Petrischale gegossen. Nach 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank wurde die Zahl der ausgewachsenen Kolonien berechnet. Der nephelometrische Titer wurde so bestimmt, daß man zu demselben Nährboden, auf welchem die Bakterien kultiviert wurden, eine Aufschwemmung der betreffenden Keime, deren Konzentration bekannt war, hinzufügte, um dieselbe Trübung, welche die Kulturflüssigkeit aufwies, zu erhalten. Der nephelometrische Titer gab uns nicht bloß den Begriff über die Zahl der lebensfähigen, sondern auch über die Zahl der toten, aber noch nicht aufgelösten Bakterien. Die Bestimmung des nephelometrischen Titers einer Bouillonkultur hat den Nachteil, daß es unmöglich ist, mit Sicherheit zu sagen, ob die Trübung ausschließlich von der Anwesenheit der Bakterien herstammt oder auch in gewissem Grade von Niederschlägen, die infolge chemischer Umsetzungen und Stoffwechselprodukte der Bakterien entstehen. In unseren Versuchen spielt diese Möglichkeit eine geringere Rolle, da der Nährboden vorher alkalisiert und erst später sterilisiert, der Rückstand abfiltriert und die betreffende Menge des Nährmediums auf bestimmten p_H-Gehalt gebracht wurde, infolgedessen haben die Änderungen von H' zunächst keine Niederschläge hervorgerufen.

Wenn man die Abhängigkeit des Bakterienwachstums von p_H untersucht, muß man auch den Einfluß der H-Ionen auf den Nährboden selbst

berücksichtigen. Es ist bekannt, daß infolge der Alkalisierung oder eventuell Ansäuerung, Niederschläge entstehen, wobei manche Substanzen ausgeschieden werden; der Gehalt an Nährsubstanzen wird ganz verschieden. Eine bedeutende Rolle spielt hier auch die Sterilisierung. *Walbum* hat erwiesen, daß ein Nährboden, welcher nach dem Sterilisieren alkalisiert wird, einen größeren Nährwert besitzt als ein Nährboden, der vor dem Sterilisieren alkalisiert wird. In unseren Versuchen spielt dies eine geringere Rolle, da, wie erwähnt, der Nährboden zuerst alkalisiert und sterilisiert und zunächst auf einen gewissen p_H-Gehalt gebracht wurde, nur die Nährböden, welche einen ansteigenden Säuregehalt aufwiesen, konnten in diesem Falle weniger geeignet erscheinen.

Die folgenden Kurven illustrieren die Abhängigkeit zwischen den Veränderungen im p_H-Gehalt des Nährbodens, der Zahl der lebensfähigen Bakterien und der Kulturtrübung.

Die Kurve (Abb. 2), welche die Zahl der lebensfähigen Keime bezeichnet, geht nicht parallel mit der des nephelometrischen Titers. Es ist ersichtlich, daß der nephelometrische Titer noch ansteigt, oder jedenfalls nicht sinkt, trotzdem die *Zahl der lebensfähigen Bakterien sich ganz bedeutend vermindert*; das ist wahrscheinlich damit zu erklären, daß ein gewisser Teil der Bakterien ihr Lebensvermögen einbüßt, ohne jedoch der Auflösung zu unterliegen. Die lebensfähigen Keime vermehren sich, wodurch die Trübung der Kultur anwächst.

1. Wenn man die Abhängigkeit zwischen dem Bakterienwachstum und den Veränderungen im p_H-Gehalt in Betracht zieht, tritt vor allem die Tatsache hervor, daß in solchen Nährmedien ($p_H = 5$), in welchen keine Veränderungen im p_H-Gehalt auftreten, auch kein Bakterienwachstum stattfindet. Auf Grund dieser Angabe kann man, ohne auf andere Kriterien einzugehen, über das eventuelle Bakterienwachstum urteilen.

2. Das Maximum der lebensfähigen Keime erhalten wir am zweiten Tage auf allen Nährböden, mit Ausnahme der sehr alkalischen, vom p_H-Gehalt $= 9{,}5$ und saurer vom $p_H = 6{,}2$; auf diesen Nährböden erreicht man das Maximum am dritten und vierten Tage. Es scheint also daraus hervorzugehen, daß sowohl zu großer Alkali- wie Säuregehalt des Nährbodens die Geschwindigkeit des Bakterienwachstums hemmt. Die Untersuchungen von *Graham-Smith* weisen darauf hin, daß es sich kaum um einen Zufall handelt. Dieser Forscher hat festgestellt, daß je mehr sich der Nährboden alkalisiert, eventuell ansäuert, desto später wird das Maximum des Bakterienwachstums erreicht.

3. Wenn man Maxima, die in Kulturen von verschiedenem primären p_H-Gehalt der Nährböden erhalten, vergleicht, so bemerkt man, daß das Maximum desto größer ist, je kleiner die Alkaleszenz des Nährbodens, mit Ausnahme der sehr sauren. Man erhält also in den neutralen Nährmedien ein größeres Wachstum als in den alkalischen, in den sauren ein größeres als in den neutralen, mit Ausnahme der sehr sauren Nährböden. Analoge Ergebnisse hat auch *Graham-Smith* erhalten. (Dieser Forscher hat jedoch weder den primären p_H-Gehalt noch die späteren Veränderungen bestimmt.)

Betrachtet man gleichzeitig die Unterschiede im p_H-Gehalt, kann man diese Tatsache in folgender Weise erklären: in den sehr sauren und sehr alkalischen Nährmedien finden die Bakterien für ihre Lebensvorgänge ungünstige Verhältnisse und vermehren sich infolgedessen ganz langsam. Obwohl die Vermehrung langsam vor sich geht, genügt sie jedoch, um die p_H-Konzentration der Kultur zu ändern (die alkalischen Nährböden werden

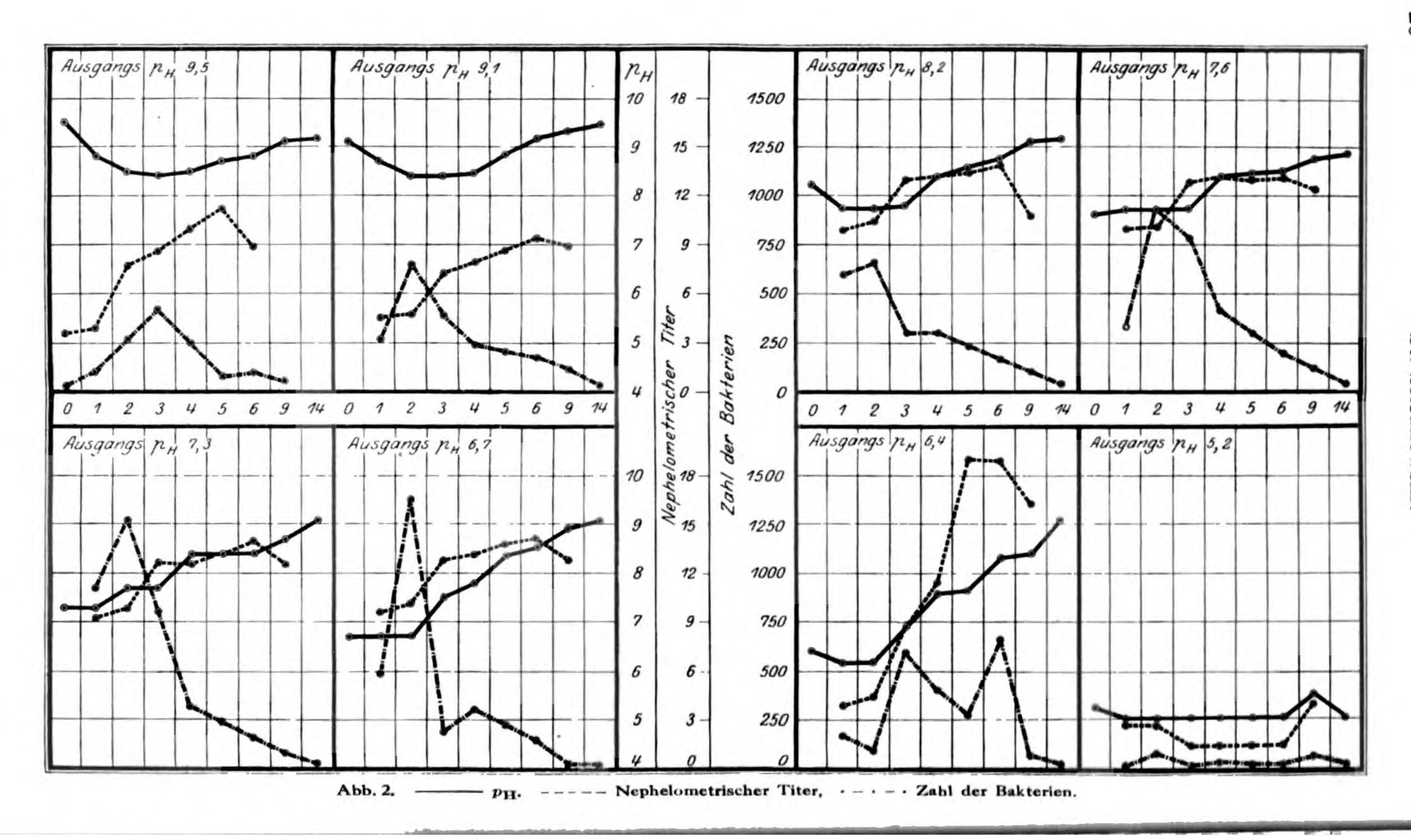


Abb. 2. ——— p_H. - - - - - Nephelometrischer Titer, · - · - · - Zahl der Bakterien.

angesäuert, die sauren alkalisiert), und zwar in solchem Sinne, daß das Bakterienwachstum gefördert wird.

Es entsteht eine zweite Frage, nämlich: Warum das Maximum des Bakterienwachstums in sauren Nährmedien größer ist als in den alkalischen? Die alkalischen Nährböden werden kaum angesäuert, erreichen das für das Bakterienwachstum erforderliche Optimum, dann tritt zunächst wieder eine Alkalisierungsphase ein, welche das Wachstum hemmt. Im Gegenteil, die Bakterien, die sich in saurem Nährmedium entwickeln, machen alle Stufen der Alkaleszenz mit und können somit das Nährsubstrat vollständig ausnutzen. Es ist auch nicht ausgeschlossen, daß Bakterien bei gewisser p_H-Konzentration nicht alle Substanzen des Nährbodens auszunutzen vermögen. Die Assimilierung der Nährstoffe hängt bei den Bakterien von der Tätigkeit der Fermente ab, welche, wie bekannt, nur bei bestimmtem p_H-Gehalt ihre Wirkung entfalten können. Bakterien, die in saurem Medium wachsen, alkalisieren allmählich die Kulturflüssigkeit und können somit, bei verschiedenem p_H-Gehalt, alle Substanzen ausnutzen, was den Bakterien in alkalischem Nährboden unzugänglich ist.

4. Wenn man die Abhängigkeit des Bakterienwachstums vom p_H-Gehalt weiter verfolgt, bemerkt man, daß gleichzeitig mit Nährbodenalkalisierung die Zahl der lebensfähigen Keime abnimmt. Was ist die Ursache und was die Folge? Wahrscheinlich hat die Verminderung der Zahl der lebenden Keime die Alkalisierung der Kultur zur Folge.

Um kennen zu lernen, worauf die Veränderungen im p_H-Gehalt der Bakterienkulturen beruhen, wurde eine ganze Reihe von Versuchen ausgeführt; zu diesem Zwecke wurden die Lebensbedingungen der Bakterien in verschiedenster Weise modifiziert und stets die Veränderungen im p_H-Gehalt notiert.

Der erste Versuch befaßt sich mit dem Einfluß der anaeroben Verhältnisse und der Tiefe der Nährbodenschicht auf die Veränderungen der p_H-Konzentration. Ein Kolistamm wurde in ein Liter enthaltende flache Flaschen mit 250 cm Bouillon (p_H = 7,7) geimpft und in vier Serien geteilt. Flaschen der ersten Serie wurden liegen gelassen, die Nährbodenschicht betrug 1 bis 25 cm; Flaschen der zweiten Serie wurden stehen gelassen, die Nährbodenschicht = 4 cm; Flaschen der dritten Serie wurden hermetisch mit Gummipfropfen geschlossen und paraffiniert; Flaschen der vierten Serie wurden, nachdem Pyrogallol und Lauge hineingebracht wurden, hermetisch geschlossen.

Ergebnisse dieser Versuche stellt Tabelle II dar.

Tabelle II.

Veränderungen im p_H-Gehalt der Kolikulturen, in Abhängigkeit von der Schicht des Nährbodens, der hermetisch geschlossenen und anaeroben Kulturen.

	Tage						
	0	1	3	5	7	11	13
Kultur, wo die Tiefe der Nährbodenschicht 1 cm betrug	7,7	7,5	8,4	8,9	9,0	9,3	9,5
Kultur, wo die Tiefe der Nährbodenschicht 4 cm betrug	7,8	7,4	8,0	8,4	8,6	9,0	9,2
Kultur, hermetisch geschlossen	7,7	7,4	7,4	7,4	7,3	7,5	7,6
„ unter anaeroben Verhältnissen	7,8	7,4	7,8	7,8	8,5	8,7	—

Es geht aus diesen Untersuchungen hervor, daß die Kultur, deren Nährbodenschicht 1,25 cm betrug, schon nach Verlauf von 5 Tagen bis auf $p_H = 9{,}0$ alkalisiert wurde; die Kultur, deren Schicht 4 cm betrug, erst nach 11 Tagen diese Alkaleszenz erreicht hat; in den hermetisch geschlossenen Kulturen trat überhaupt keine Veränderung im p_H-Gehalt hervor (nach 19 Tagen $p_H = 7{,}5$); die anaerobe Kultur wies eine ganz schwache Alkaleszenz auf. Auf Grund dieser Ergebnisse könnte man annehmen, daß bei der *Nährbodenalkalisierung der Sauerstoffzutritt eine entscheidende Rolle zu spielen vermag*; die Alkalisierung der anaeroben Kultur stellt hier aber einen Widerspruch dar.

Der nächste Versuch wurde in folgender Weise ausgeführt: Verschiedene Kolikulturen auf ein und demselben Nährboden wurden während 48 Stunden im Thermostaten aufbewahrt und zunächst, bevor die Alkalisierung begann, in wechselnde Lebensverhältnisse gebracht und dabei die Veränderungen im p_H-Gehalt beobachtet.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle III dargestellt.

Tabelle III.

Veränderungen in der H-Ionenkonzentration in 48stündigen Bouillonkulturen, in Abhängigkeit von verschiedenen Bedingungen.

Nr.		p_H 48 Std. Kultur	Nach 2 Tagen	3	4	5	6	11	17
1	Kultur, offengelassen bei 36° (Kontrolle)	7,3	8,2	8,3	8,4	8,2	8,3	8,4	8,4
2	Kultur, offengelassen bei Zimmertemperatur	7,2	7,5	7,5	7,6	7,6	7,7	7,9	7,9
3	Kultur, hermetisch geschlossen .	7,4	7,1	7,1	7,1	6,9	6,9	6,9	6,7
4	Kultur, unter anaeroben Verhältnissen	7,4	7,7	7,7	7,8	7,7	7,8	7,8	7,8
5	Kultur, während 1 Stunde bei 80° erhitzt	7,3	8,3	8,3	8,3	8,0	8,0	8,2	8,0
6	Kultur, während 5 Minuten bei 100° erhitzt	7,3	8,3	8,3	7,9	7,7	7,8	7,8	7,8
7	Kultur mit Phenolzusatz in der Menge von 0,25 Proz.	7,3	7,7	7,7	7,7	7,7	7,8	7,9	7,9
8	Kultur mit Phenolzusatz in der Menge von 0,5 Proz.	7,1	7,5	7,5	7,7	7,7	7,8	7,9	7,9
9	Kultur mit Phenolzusatz in der Menge von 1 Proz.	7,2	7,3	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,7
10	Kultur, hermetisch geschlossen mit Zusatz von Kalknatron	7,1	8,4	8,5	8,5	8,5	8,5	8,6	8,7

Es geht daraus hervor:

1. Ähnlich wie in vorigem Versuche wurde die offene Kultur im Brutschrank (36°) ziemlich schnell alkalisiert.

2. Die offene und bei Zimmertemperatur aufbewahrte Kultur alkalisiert sich bedeutend langsamer.

3. Die *hermetisch geschlossene Kultur wird überhaupt nicht alkalisiert*, im Gegenteil, der p_H-Gehalt sinkt sogar, trotzdem die Bakterien lebensfähig sind.

4. Die anaerobe Kultur wird anfangs alkalisiert, verbleibt aber zunächst unverändert.

5. und 6. Die während 1 Stunde bis auf 80° und während 5 Minuten bis auf 100° erhitzten Kulturen alkalisieren sich anfangs ganz intensiv, um sich zunächst etwas anzusäuern, trotzdem die Bakterien abgetötet sind. Dieser Versuch scheint darauf hinzuweisen, daß *die Alkalisierung der Bakterienkultur nicht ausschließlich von der Tätigkeit der Enzyme abhängt*, denn diese müßten ja bei 100° vernichtet werden.

7., 8. und 9. Kulturen von 0,25, 0,5 und 1 Proz. Phenolgehalt werden schwach und langsam alkalisiert; die Bakterien dieser Kultur sind abgetötet.

10. Wenn man eine Bakterienkultur mit einem Gummipfropfen hermetisch schließt, findet keine Alkalisierung statt (siehe Punkt 3). Wenn man aber zu einer hermetisch geschlossenen Kultur etwas Kalknatron, welches, wie bekannt, CO_2 bindet, hinzufügt, wird eine größere Alkaleszenz erreicht als in einer offenen Kultur. Dieses Phänomen ist so zu deuten, daß Kalknatron das CO_2 bindet, welches, im Nährboden aufgelöst, die Ansäuerung hervorruft. Kohlensäureanhydrid scheint also bei der Alkalisierung der Bakterienkulturen eine entscheidende Rolle zu spielen. Der folgende Versuch bestätigt diese Ansicht: Wenn man eine hermetisch geschlossene Bakterienkultur öffnet, alkalisiert sie sich langsam, die *Alkalisierung tritt aber sofort auf, wenn man einen Luftstrom, der keine CO_2 enthält*, durchgehen läßt. Die Quantität des ausgeschiedenen CO_2 kann ganz genau bestimmt werden, indem man den durch die Bakterienkultur durchpassierten Luftstrom in eine Bariumhydroxydlösung bringt.

Von der Bindung, eventuell der Ausscheidung des CO_2 kann eine ganze Reihe erwähnter Vorgänge, die in Bakterienkulturen stattfinden, in Abhängigkeit gebracht werden.

1. Wir haben festgestellt, daß die Geschwindigkeit der Bakterienkulturalkalisierung von der Schicht des Nährbodens abhängt; das ist jetzt verständlich, denn je größer die Oberfläche der Kultur im Verhältnis zu der Tiefe, desto leichter kann das angesammelte CO_2 in die Luft entweichen. Am besten vollzieht sich dieser Prozeß auf den festen Nährböden, wo das Bakterienwachstum ausschließlich an die Oberfläche gebunden ist.

2. Die hermetisch geschlossenen Kulturen werden überhaupt nicht alkalisiert, sondern im Gegenteil sogar angesäuert, was damit zu erklären ist, daß das entstehende Kohlensäureanhydrid nicht entweichen kann, sich im Nährboden sammelt und dessen Ansäuerung bewirkt.

3. Die anaeroben Kulturen alkalisieren sich ganz unbedeutend. Um anaerobe Verhältnisse zu schaffen, wurde Pyrogallol und Lauge, laut der Methode von *Buchner*, angewandt. Da die Lauge manchmal in Überschuß gebraucht wird, kann sie CO_2 binden, was die Alkalisierung zur Folge hat. Darauf hat auch *Rockwell* aufmerksam gemacht.

4. Die während 1 Stunde bis auf 80°, und während 5 Minuten bis auf 100° erhitzten Kulturen alkalisieren sich anfangs ziemlich stark, um zunächst keinen Veränderungen mehr zu unterliegen. Die Bakterien werden infolge der Erhitzung abgetötet, die erhöhte Temperatur erleichtert aber gleichzeitig den Abfluß des CO_2, was die Alkalisierung des Nährbodens begünstigt. Der Phenolzusatz bewirkt ebenfalls, infolge der CO_2-Ausscheidung, eine unbedeutende Alkalisierung der Bakterienkultur.

Die Alkalisierung des Nährbodens hängt also in gewissem Grade auch davon ab, wie schnell das Kohlensäureanhydrid ausgeschieden wird. Wir haben schon erwähnt, daß sowohl in den sauren, wie in den alkalischen Bakterienkulturen der p_H-Gehalt während der ersten Tage einen Punkt erreicht, der sich in der Nähe des neutralen befindet. Es war anzunehmen,

daß dieser Punkt in Abhängigkeit davon wechselt, ob CO_2 leicht oder schwer aus dem Nährboden entweichen kann. Wir konnten diese Vermutung experimentell bestätigen: je schwieriger der Austritt des Kohlensäureanhydrids gemacht wurde, desto mehr wurde der p_H-Gehalt vom neutralen Punkt entfernt und nach der sauren Seite gerichtet. Die Nährböden, aus denen CO_2 nicht ausgeschieden werden kann, verbleiben sauer, wenn man aber einen Luftstrom ohne CO_2-Gehalt durchfließen läßt, tritt keine Ansäuerung ein. Durch Regulierung der Ausscheidung des CO_2 kann man in bedeutendem Maße die Art und Geschwindigkeit des Stoffwechsels der Bakterienkulturen beeinflussen. Bei den höheren Tieren sind es die Atmungsorgane, welche die Regulierung der CO_2-Ausscheidung bewirken.

Wir haben oben erwiesen, daß während des Bakterienwachstums auf zuckerlosen Nährböden, welche Fleischextrakt, Albumosen und Aminosäuren enthalten, alkalische Stoffwechselprodukte entstehen. Gleichzeitig mit dem Alkalisierungsprozeß findet aber eine Säureproduktion statt. Infolge der Atmungsprozesse der Bakterien wird CO_2 ausgeschieden, wobei die Acidität des Nährbodens zunimmt. Je intensiver das Bakterienwachstum, desto mehr alkalische Stoffwechselprodukte, welche die Alkaleszenz steigern, gleichzeitig aber auch mehr CO_2, das die Acidität hervorruft. Zwischen diesen zwei Prozessen muß ein Gleichgewicht existieren.

In den stark alkalischen Nährmedien entsteht während des Bakterienwachstums CO_2, welches teilweise im Nährboden aufgelöst, teilweise aber als Carbonat eventuell Bicarbonat gebunden wird (in Abhängigkeit von größerer oder kleinerer Alkaleszenz). Infolge dieser Prozesse steigt die Acidität des Nährbodens, was für das Bakterienwachstum vorteilhaft ist.

In den sauren Nährmedien entsteht ebenfalls CO_2, aber in sauren Flüssigkeiten können weder Carbonate noch Bicarbonate gebildet werden; eine minimale Menge des Kohlensäureanhydrids wird im Nährboden aufgelöst, der Rest ausgeschieden (wenn Austritt vorhanden ist). Da infolge des Bakterienwachstums alkalische Stoffwechselprodukte entstehen, tritt Alkalisierung des Nährbodens ein, was ebenfalls die Lebensverhältnisse der Mikroorganismen begünstigt.

In den alkalischen Nährmedien überwiegen die Säuerungsprozesse, in den neutralen herrscht Gleichgewicht zwischen den Alkalisierungs- und Säuerungsprozessen. Wir haben schon darauf aufmerksam gemacht, daß in allen Kulturen, sowohl in den zuvor alkalischen wie zuvor sauren, die p_H-Konzentration nach gewissem Zeitablauf einen Punkt erreicht, der für die betreffende Bakterienart und unter den betreffenden Bedingungen konstant ist. Dieser Punkt ist wahrscheinlich identisch mit demjenigen, welcher das Gleichgewicht zwischen den zwei antagonistischen (Alkalisierung und Säuerung) Prozessen darstellt. Das Gleichgewicht zwischen den zwei Prozessen dauert, so lange das Bakterienwachstum üppig vor sich geht. Wenn aber die Keime Nährsubstrate in der Kultur ausgenutzt haben, fängt das Absterben an, gleichzeitig hört das Produzieren des CO_2 auf; das Gleichgewicht wird gestört, und zwar zugunsten der Alkalisierungsprozesse. Es ist denkbar, daß Fermente, die bei Bakterienzerfall frei werden, ihre Tätigkeit entfalten. Diese Tatsache kann uns vielleicht erklären, warum die Verminderung der Zahl der lebensfähigen Mikroorganismen immer, wie erwähnt, die Alkalisierung der Bakterienkultur zur Folge hat.

Es geht aus unseren Versuchen hervor, daß die Regulierung der H-Ionenkonzentration in den Bakterienkulturen sich in derselben Weise vollzieht, wie im Blute des Menschen und höherer Tiere, nämlich durch das

Binden eventuell Ausscheiden des Kohlensäureanhydrids. Wir finden hier also eine Koinzidenz zwischen den niedrigsten einzelligen Organismen, den Bakterien und dem am höchsten organisierten, dem Menschen.

Zuletzt möchte ich Frau *Mickiewitsch*, Frl. *Salomon* und *Zajdel* und Herrn *Pietraszewski* meinen innigsten Dank für die Ausführung mancher Versuche ausdrücken.

Zusammenfassung.

1. Man kann die Veränderungen, die während des Bakterienwachstums in flüssigen, zuckerlosen, verschiedene p_H-Konzentrationen enthaltenden Nährböden eintreten, in zwei Phasen teilen: Während der ersten, 1 bis 4 Tage andauernden Periode regulieren die Bakterien den p_H-Gehalt in solcher Weise, daß alle Kulturen die $p_H = 7$ erreichen. Während dieser Phase unterliegen die Nährböden, die sich in der Nähe dieses Punktes ($p_H = 7$) befinden, keinen Veränderungen, die alkalischen werden angesäuert und die sauren alkalisiert. Dieser Punkt beträgt für Bact. coli und Choleravibrionen $p_H = 7{,}6$, für Bac. Shiga-Kruse 6,8. Dieser Punkt wechselt aber in Abhängigkeit von verschiedenen Bedingungen. Nach der ersten „Regulierungsphase" folgt die zweite, dadurch charakterisiert, daß sich ausnahmslos alle Bakterienkulturen alkalisieren und nach einem gewissen Zeitverlauf alle Nährböden, sowohl die sauren wie alkalischen, dieselbe p_H-Konzentration, welche sich innerhalb der alkalischen Zone befindet, erreichen. Eine ganze Reihe Bakterienstämme, die wir untersucht haben, verhielten sich in derselben Weise. Die Produktion alkalischer Stoffwechselprodukte (die noch bisher unbekannt sind) in alten zuckerlosen Kulturen stellt ein charakteristisches Merkmal vieler Bakterienarten dar.

2. Die Veränderungen in der p_H-Konzentration verbleiben in innigem Zusammenhang mit dem Bakterienwachstum: a) Die Mikroorganismen entwickeln sich am schnellsten in solchen Nährmedien, deren p_H-Gehalt sich in der Nähe dieses Punktes befindet, welchen die Bakterien während der ersten Tage des Wachstums zu erreichen „suchen". Je mehr der primäre p_H-Gehalt von diesem Punkte entfernt ist und sich der Acidität eventuell Alkalinität nähert, desto langsamer ist das Wachstum und desto später wird das Maximum erreicht. b) Das Bakterienwachstum ist in den neutralen Nährböden üppiger als in den alkalischen, und in den sauren üppiger als in den neutralen. Das Maximum im Bakterienwachstum tritt in sauren Nährböden jedoch später als in den alkalischen hervor. c) Wenn sich kein Bakterienwachstum vollzieht, sind auch keine Veränderungen im p_H-Gehalt wahrzunehmen; die Veränderungen der p_H-Konzentration sind also streng an das Bakterienwachstum gebunden.

3. Der Mechanismus der Veränderungen im p_H-Gehalt der Bakterienkulturen ist folgender: Die Mikroorganismen, die sich auf zucker-

losem Nährboden entwickeln, produzieren (bis jetzt noch unbekannte) alkalische Stoffwechselprodukte; gleichzeitig wird infolge der Atmung CO_2 ausgeschieden, welches die Acidität des Nährbodens steigert. Die Bakterienkulturen alkalisieren sich desto schneller, je leichter CO_2 entweichen kann. Die offenen (eventuell mit Wattepfropfen geschlossenen Kulturen) alkalisieren sich desto schneller, je größer die Oberfläche im Verhältnis zur Tiefe des Nährbodens. Die hermetisch geschlossenen Kulturen alkalisieren sich überhaupt nicht, da das Kohlensäureanhydrid keinen Abfluß findet. Wenn man aber zu hermetisch geschlossener Kultur etwas Kalknatron, welches CO_2 resorbiert, zufügt, tritt die Alkalisierung ebenso schnell auf wie in der offenen. Die Regulierung der H-Ionenkonzentration vollzieht sich während der ersten Tage in folgender Weise: In den alkalischen Kulturen produzieren die Bakterien CO_2, welches teilweise im Nährboden aufgelöst wird, teilweise aber Carbonate eventuell Bicarbonate bildet (in Abhängigkeit vom Alkaleszenzgrad des Nährmediums), was die Ansäuerung der Kultur zur Folge hat. In den sauren Nährmedien entsteht gleichfalls CO_2, aber hier ist die Bildung der Carbonate und Bicarbonate unmöglich; ein Teil des CO_2 wird im Nährboden aufgelöst, der Rest wird, falls Abfluß existiert, nach außen ausgeschieden. Da infolge des Bakterienwachstums alkalische Stoffwechselprodukte erscheinen, bewirken sie die Nährbodenalkalisierung. Die Regulation der H-Ionenkonzentration ist durch das Binden eventuell Ausscheiden des CO_2 bedingt; sie verläuft also prinzipiell ebenso wie die Regulierung im Blute des Menschen und höherer Tiere. In den älteren Kulturen, wo das Absterben der Bakterien anfängt, hört die CO_2-Produktion auf, was die Alkalisierung des Nährbodens zur Folge hat; das betrifft sowohl die sauren wie die alkalischen Bakterienkulturen. Das Absterben der Bakterien bewirkt die Alkalisierung des Nährbodens.

Die Konzentration des Silberions in Lösungen von kolloiden und komplexen Silberpräparaten mit besonderer Berücksichtigung ihrer medizinischen Anwendung. II[1]).

Von

H. Schlee und W. Thiessenhusen.

(Aus dem Pharmazeutischen Institut und Laboratorium für angewandte Chemie der Universität München.)

(Eingegangen am 24. Juni 1924.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

Mit Hilfe der elektrometrischen Methode wurde in einer weiteren Reihe von medizinischen Silberpräparaten die Konzentration des Silberions in den Lösungen in Wasser sowie in Natriumchlorid und Eiweiß enthaltenden Flüssigkeiten, wie Blut oder Blutserum, bestimmt, worüber hier kurz berichtet werden soll. Die Versuchsergebnisse wurden wieder in Tabellen zusammengestellt, die neben der Konzentration des Silberions die gemessene, ihrer Berechnung zugrunde liegende elektromotorische Kraft in Millivolt enthalten. Da als Normaltemperatur jetzt fast allgemein die von $+ 20^0$ C eingeführt ist, so wurden die Messungen bei dieser Temperatur vorgenommen. Die untersuchten Präparate waren: *Dispargen*, *Fulmargin*, *Argobol*, *Kollargol*, *Jodkollargol* und *Solargyl*. Außerdem wurde noch das Verhalten zweier aus Silbersalvarsan hergestellten *Silbersalvarsanbasen* in wässeriger Lösung studiert. Nach der früher[2]) aufgestellten Einteilung hinsichtlich der Änderung der Silberion-Konzentration beim Verdünnen der wässerigen Lösungen gehören zu der ersten Gruppe von Silberpräparaten, in deren wässeriger Lösung bei steigender Verdünnung die Silberion-Konzentration abnimmt, Dispargen, Fulmargin und Argobol.

1. *Dispargen* besteht aus dunkelblauen Lamellen, die sich in Wasser verhältnismäßig schwer mit brauner Farbe lösen. Das untersuchte Präparat

---

[1]) Die I. Mitteilung erfolgte diese Zeitschr. 148, 383, 1924.
Es ist uns eine angenehme Pflicht, Herrn Geheimrat Professor Dr. *Th. Paul*, der die Anregung zu vorliegender Arbeit gegeben und uns bei ihrer Ausführung mit wertvollen Ratschlägen unterstützt hat, auch an dieser Stelle unseren ergebensten Dank auszusprechen.

[2]) *Th. Paul*, Zeitschr. f. Elektrochem. 18, 524, 1912.

hatte einen Silbergehalt von 18,53 Proz. Die Konzentration des Silberions vermindert sich nach Tabelle I von $1,2 \,.\, 10^{-1}$ in der 2proz. auf $2,1 \,.\, 10^{-3}$ mg-Ion in 1 Liter in der 0,016proz. Lösung. Von dem Gesamtsilber der Lösungen ist noch nicht 1 Proz. dissoziiert.

Tabelle I.

Dispargen. Bestimmung der Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung und in Rinderblutserum.
Silbergehalt des Präparats 18,53 Proz.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
		Bestimmung der [Ag˙] der Lösungen in						
		Wasser			NaCl-Lösung $v = 2 \,.\, 11{,}96$ Liter		Serum	
			[Ag˙]					
Gehalt an Dispargen (g in 100 ccm)	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	ε_c (Millivolt)	berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	Proz. d. Silbergehalts	ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)
2	$3,4 \,.\, 10^{1}$	288	$1,2 \,.\, 10^{-1}$	0,4	43	$7,4 \,.\, 10^{-6}$	+ 22	$3,3 \,.\, 10^{-6}$
1	$1,7 \,.\, 10^{1}$	283	$1,0 \,.\, 10^{-1}$	0,6	49	$9,4 \,.\, 10^{-6}$	— 9	9,[illegible] . 10^{-7}
0,5	$8,6 \,.\, 10^{0}$	274	$7,0 \,.\, 10^{-2}$	0,8	46	$8,6 \,.\, 10^{-6}$	— 29	$4,3 \,.\, 10^{-7}$
0,25	$4,3 \,.\, 10^{0}$	259	$4,0 \,.\, 10^{-2}$	0,9	42	$7,4 \,.\, 10^{-6}$	— 43	$2,5 \,.\, 10^{-7}$
0,125	$2,2 \,.\, 10^{0}$	239	$1,8 \,.\, 10^{-2}$	0,8	42	$7,4 \,.\, 10^{-6}$	— 59	$1,3 \,.\, 10^{-7}$
0,063	$1,1 \,.\, 10^{0}$	216	$7,1 \,.\, 10^{-3}$	0,6	44	$7,8 \,.\, 10^{-6}$	— 79	$5,9 \,.\, 10^{-8}$
0,031.	$5,4 \,.\, 10^{-1}$	197	$3,4 \,.\, 10^{-3}$	0,6	46	$8,6 \,.\, 10^{-6}$	— 92	$3,6 \,.\, 10^{-8}$
0,016	$2,7 \,.\, 10^{-1}$	185	$2,1 \,.\, 10^{-3}$	0,8	40	$6,6 \,.\, 10^{-6}$	—107	$2,0 \,.\, 10^{-8}$

2. *Fulmargin* soll eine durch elektrische Zerstäubung hergestellte kolloide Silberlösung sein. Es hat eine dunkelbraune Farbe; sein Silbergehalt wurde zu 0,13 Proz. gefunden. In der unverdünnten, nachstehend als 100proz. bezeichneten Fulmarginlösung beträgt nach Tabelle II, Abb. 1,

Tabelle II.

Fulmargin. Bestimmung der Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung und in Rinderblutserum.
Silbergehalt des Präparats 0,13 Proz.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
		Bestimmung der [Ag˙] der Lösungen in						
		Wasser			NaCl-Lösung $v = 2 \,.\, 11{,}96$ Liter		Serum	
			[Ag˙]					
Gehalt an Fulmargin (ccm in 100 ccm)	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	ε_c (Millivolt)	berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	Proz. d. Silbergehalts	ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)
100	$1,2 \,.\, 10^{1}$	363	$2,4 \,.\, 10^{0}$	20,0	—	—	—	—
50	$6,0 \,.\, 10^{0}$	348	$1,3 \,.\, 10^{0}$	21,7	37	$5,9 \,.\, 10^{-6}$	33	$5,0 \,.\, 10^{-6}$
25	$3,0 \,.\, 10^{0}$	332	$7,0 \,.\, 10^{-1}$	23,3	35	$5,4 \,.\, 10^{-6}$	31	$4,6 \,.\, 10^{-6}$
12,5	$1,5 \,.\, 10^{0}$	313	$3,4 \,.\, 10^{-1}$	22,7	34	$5,2 \,.\, 10^{-6}$	23	$3,4 \,.\, 10^{-6}$
6,25	$7,5 \,.\, 10^{-1}$	295	$1,6 \,.\, 10^{-1}$	21,3	33	$5,0 \,.\, 10^{-6}$	3	$1,6 \,.\, 10^{-6}$
3,13	$3,8 \,.\, 10^{-1}$	273	$6,9 \,.\, 10^{-2}$	18,2	35	$5,4 \,.\, 10^{-6}$	—26	$4,8 \,.\, 10^{-7}$
1,56	$1,9 \,.\, 10^{-1}$	255	$3,4 \,.\, 10^{-2}$	17,9	34	$5,2 \,.\, 10^{-6}$	—54	$1,6 \,.\, 10^{-7}$

die Konzentration des Silberions $2,4 \cdot 10^{0}$, in der 1,56 ccm Fulmargin in 100 ccm enthaltenden Verdünnung $3,4 \cdot 10^{-2}$ mg-Ion in 1 Liter. An Gesamtsilber enthalten diese Lösungen $1,2 \cdot 10^{1}$ bzw. $1,9 \cdot 10^{-1}$ mg-Atom in 1 Ltr. In diesen Lösungen ist also etwa der fünfte Teil des Silbers in Ionen zerfallen, und dieser Zerfall ist auch in den dazwischen liegenden Verdünnungen gleich groß.

3. *Argobol* ist ein gelblich-weißes, in Wasser sehr schwer lösliches Pulver, das nach den Angaben der herstellenden Firma 2 Proz. Silberphosphat enthält. Dieses Präparat, das nur zum äußerlichen Gebrauch als Streupulver verwendet wird, wurde hier mit untersucht. In der aus 4 g Argobol mit 200 ccm Wasser hergestellten gesättigten Lösung wurden in zwei Analysen im Mittel 0,0194 g Silber in 1000 ccm gefunden. In den hieraus hergestellten Verdünnungen ist das Silber vollkommen dissoziiert. Von der ½-gesättigten bis zur $^{1}/_{64}$-gesättigten Lösung nimmt die Konzentration des Silberions von $9,5 \cdot 10^{-2}$ bis $3,1 \cdot 10^{-3}$ mg-Ion in 1 Liter ab (Tabelle III).

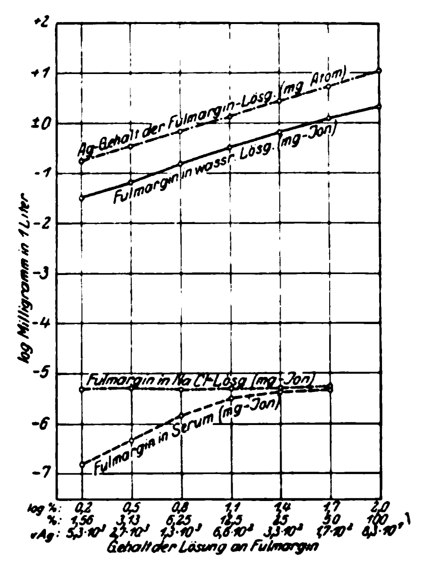


Abb. 1. Fulmargin. Konzentration des Silberions der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung $v = 11,96$ Liter und in Rinderblutserum. (Graphische Darstellung der Tabelle II.)

Tabelle III.

Argobol. Bestimmung der Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung und in Rinderblutserum.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
		Bestimmung der [Ag˙] der Lösungen in						
		Wasser			NaCl-Lösung $v = 2 \cdot 11,96$ Liter		Serum	
Gehalt an Argobol	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	[Ag˙] Proz. d. Silbergehalts	ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)
½-gesättigt	$9,0 \cdot 10^{-2}$	281	$9,5 \cdot 10^{-2}$	105,6	38	$6,1 \cdot 10^{-6}$	— 105	$2,1 \cdot 10^{-8}$
¼- „	$4,5 \cdot 10^{-2}$	262	$4,4 \cdot 10^{-2}$	97,8	36	$5,7 \cdot 10^{-6}$	— 110	$1,7 \cdot 10^{-8}$
⅛- „	$2,3 \cdot 10^{-2}$	247	$2,4 \cdot 10^{-2}$	104,3	37	$6,0 \cdot 10^{-6}$	— 117	$1,4 \cdot 10^{-8}$
$^{1}/_{16}$- „	$1,1 \cdot 10^{-2}$	226	$1,1 \cdot 10^{-2}$	100,0	39	$6,3 \cdot 10^{-6}$	— 124	$1,0 \cdot 10^{-8}$
$^{1}/_{32}$- „	$5,6 \cdot 10^{-3}$	202	$4,1 \cdot 10^{-3}$	73,2	36	$5,7 \cdot 10^{-6}$	— 128	$8,5 \cdot 10^{-9}$
$^{1}/_{64}$- „	$2,8 \cdot 10^{-3}$	195	$3,1 \cdot 10^{-3}$	110,7	37	$6,0 \cdot 10^{-6}$	— 133	$7,2 \cdot 10^{-9}$

Zur zweiten Gruppe der Silberpräparate, in deren wässeriger Lösung bei steigender Verdünnung die Konzentration des Silberions annähernd konstant bleibt, kann man die *Silbersalvarsanbasen* zählen,

die aus Silbersalvarsanlösungen durch Soda (Base I) und nach dem Lösen dieser Base in Natronlauge durch Kohlendioxyd (Base II) gefällt werden[1]). Diese Präparate wurden uns für unsere Versuche von Herrn Prof. *A. Binz*, Berlin, liebenswürdigerweise zur Verfügung gestellt, wofür wir ihm auch an dieser Stelle unseren ergebensten Dank aussprechen. Der Silbergehalt beträgt nach den a. a. O. mitgeteilten Analysen bei Base I 11,91 und 12,43 Proz., bei Base II 12,98 Proz. Wegen der Schwerlöslichkeit der beiden Basen wurden zur Bestimmung der Konzentration des Silberions gesättigte Lösungen verwendet, deren Gehalt an Silbersalvarsanbase durch Löslichkeitsbestimmungen bei 20° festgestellt wurde. Nach 24-stündigem Schütteln von je 0,05 g der beiden Präparate mit je 100 ccm Leitfähigkeitswasser im Thermostaten entstand von Base I eine zitronengelbe, von Base II eine orangegelbe Lösung, während die Farbe des ungelöst gebliebenen Rückstandes in beiden Fällen schwarz war. Dieser betrug nach dem Abfiltrieren und Trocknen bei 100°:

von Base I . . . . . . 0,0060 g
" " II . . . . . . 0,0058 g,

so daß in Lösung gegangen waren:

von Base I . . . . . . 0,0440 g
" " II . . . . . . 0,0442 g,

also in beiden Fällen 0,44 g in 1 Liter. Beim Schütteln unter Ausschluß von Luft lösten sich von 0,150 g der Basen in 280 ccm Wasser bei 20°:

von Base I . . . . 0,0720 g = 0,26 g in 1 Liter
" " II . . . . 0,0920 g = 0,33 g " 1 " .

In diesen Lösungen konnte auch nach dem Eindampfen größerer Mengen Flüssigkeit Silber nicht nachgewiesen werden. Auch nach dem Zerstören der Silbersalvarsanbasen durch Perhydrol nach *A. Binz*[2]) ließ sich kein Silber feststellen. Nach den in Tabelle IV aufgeführten und in Abb. 2 eingetragenen Ergebnissen der elektrometrischen Bestimmung der Silberion-Konzentration zeigen die von Base I erhaltenen Lösungen und ihre Verdünnungen annähernd konstante Werte, nämlich etwa $1 \cdot 10^{-4}$, die von Base II hiervon wenig abweichende Werte zwischen 0,3 und $1 \cdot 10^{-4}$ mg-Ion in 1 Liter. Da das hierzu verwendete Leitfähigkeitswasser selbst eine nahezu gleich große elektromotorische Kraft wie die Versuchslösungen anzeigt, so erscheint es fraglich, ob die

[1]) *A. Binz* und *W. H. Ludwig*, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **55**, 3826, 1922. Nach brieflicher Mitteilung des Herrn Prof. *A. Binz* hat sich bei neueren Untersuchungen herausgestellt, daß Base I kein einheitlicher Körper ist, sondern aus einem Gemisch von Base II und einer neuen Verbindung besteht.

[2]) Arbeiten aus dem Institut für experimentelle Therapie und dem Georg-Speyer-Hause zu Frankfurt a. M. 7, 43, 1919.

aufgetretenen Potentiale auf etwa vorhandenes, analytisch nicht mehr nachweisbares Silber zurückzuführen sind.

Tabelle IV.
Silbersalvarsanbase.
Bestimmung der Silberion-Konzentration der Lösungen zweier Präparate in Leitfähigkeitswasser.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Base I (Sodafällung)				Base II (CO_2-Fällung)			
	gelöst bei Gegenwart von Luft		gelöst bei Abwesenheit v. Luft		gelöst bei Gegenwart von Luft		gelöst bei Abwesenheit v. Luft	
Gehalt an Silbersalvarsanbase	ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)
1/1-gesättigt	108	9,8 . 10−5	104	8,4 . 10−5	80	3 2 . 10−5	88	4,4 . 10−5
1/2- „	109	1,0 . 10−4	104	8,4 . 10−5	81	3,3 . 10−5	90	4,8 . 10−5
1/4- „	106	9,1 . 10−5	106	9,1 . 10−5	81	3,3 . 10−5	95	5,9 . 10−5
1/8- „	109	1,0 . 10−4	105	8,7 . 10−5	111	1,1 . 10−4	104	8,4 . 10−5
1/16- „	110	1,1 . 10−4	105	8,7 . 10−5	111	1,1 . 10−4	105	8,7 . 10−5
Wasser ohne Präparat . . .	106	9,1 . 10−5	106	9,1 . 10−5	108	9,8 . 10−5	108	9,8 . 10−5

Abb. 2. Silbersalvarsanbase. Konzentration des Silberions der Lösungen zweier Präparate in Leitfähigkeitswasser. (Graphische Darstellung der Tabelle IV.)

Zur dritten Gruppe der Silberpräparate, in deren wässeriger Lösung bei steigender Verdünnung die Silberion-Konzentration zunimmt, gehören Kollargol, Jodkollargol und Solargyl.

1. *Kollargol* ist bereits früher[1]) nach verschiedenen Richtungen untersucht worden. Diese Versuche wurden nun im folgenden auf so starke Verdünnungen ausgedehnt, bis die Bestimmung der Konzen-

---

[1]) Zeitschr. f. Elektrochem. 18, 524, 1912; diese Zeitschr. 148, 383, 1924.

tration des Silberions nicht mehr mit genügender Sicherheit durchgeführt werden konnte. Das hierzu verwendete Präparat war am 10. August 1922 bezogen worden und hatte einen Silbergehalt von 73,51 Proz. In den wässerigen Lösungen steigt nach Tabelle V die Konzentration des Silberions von 3,7 . 10^{-5} der 4proz. bis 4,1 . 10^{-3} mg-Ion in 1 Ltr. der 0,004proz. Lösung.

2. *Jodkollargol* ist nach den Angaben im Schrifttum[1]) kolloides Jodsilber, das 31 Proz. Eiweißstoffe als Schutzkolloid enthält. Zur Untersuchung lagen zwei Präparate vor, von denen das eine — Jodkollargol I — am 17. Oktober 1922 bezogen und als „Jod-Collargol" bezeichnet war; das andere — Jodkollargol II — wurde am 27. November 1922 bezogen und trug die Bezeichnung: „Präparat Nr. 544. — Aus Kollargol u. Jod dargestellt, 31. Juli 1922; etwa 70 Proz. AgJ."

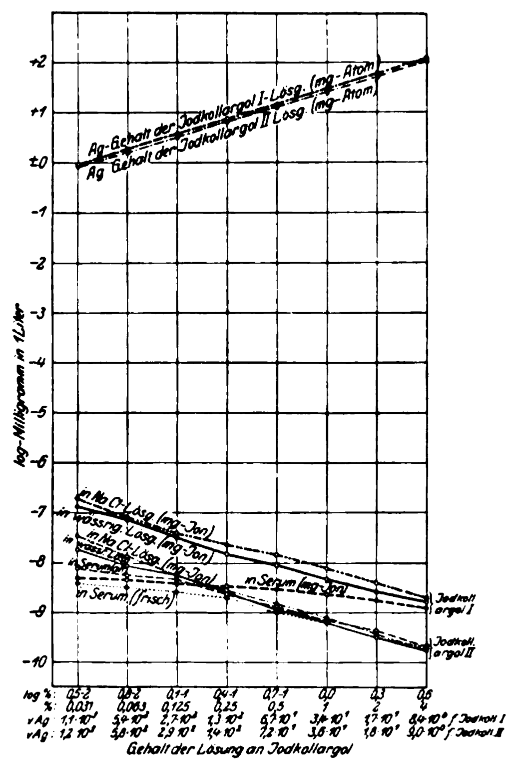


Abb. 3. Jodkollargol. Konzentration des Silberions der Lösungen zweier verschiedener Präparate in Wasser, in Natriumchloridlösung $v = 11{,}96$ Liter und in Rinderblutserum. (Graphische Darstellung der Tabellen VI und VII.)

Die Bestimmung des Gesamtsilbergehaltes, die in Anlehnung an die von *Ed. Meusel*[2]) zur Analyse des Silberjodids angegebene Methode durchgeführt wurde, ergab für

Jodkollargol I:	1. 32,21 Proz. Ag 2. 31,98 Proz. Ag	Mittel 32,10 Proz. Ag = 69,87 Proz. AgJ;
Jodkollargol II:	1. 30,06 Proz. Ag 2. 29,87 Proz. Ag	Mittel 29,97 Proz. Ag = 65,23 Proz. AgJ.

Demnach entspricht der Gehalt an Silber und damit der an Silberjodid bei Präparat I den in der Literatur zu findenden Angaben.

---

[1]) Pharmazeutische Zeitung **64**, 835, 1919.

[2]) *A. Classen*, Ausgewählte Methoden der analytischen Chemie. Braunschweig, Friedr. Vieweg & Sohn, 1901. II. Bd., S. 400.

Tabelle V.

Kollargol. Bestimmung der Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösungen $v = 11,96$ und $v = 9,86$ Liter, in Rinder- und Menschenblutserum, in Menschenblut.

Silbergehalt des Präparats 73,51 Proz.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
		Bestimmung der [Ag˙] der Lösungen in												
Gehalt an Kollargol (g in 100 ccm)	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	Wasser			NaCl-Lösung $v = 2 . 11,96$ Liter		NaCl-Lösung $v = 2 . 9,86$ Liter		Rinderblutserum		Menschenblutserum		Menschenblut	
		ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	[Ag˙] Proz. des Silbergehalts	ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)
4	$2,7 . 10^{2}$	83	$3,7 . 10^{-5}$	$1,4 . 10^{-5}$	28	$4,2 . 10^{-6}$	22	$3,2 . 10^{-6}$	22	$3,2 . 10^{-6}$	17	$2,7 . 10^{-6}$	— 33	$3,6 . 10^{-7}$
2	$1,4 . 10^{2}$	96	$6,2 . 10^{-5}$	$4,4 . 10^{-5}$	31	$4,8 . 10^{-6}$	26	$3,8 . 10^{-6}$	18	$2,8 . 10^{-6}$	13	$2,3 . 10^{-6}$	— 47	$2,1 . 10^{-7}$
1	$6,8 . 10^{1}$	111	$1,1 . 10^{-4}$	$1,6 . 10^{-4}$	32	$4,9 . 10^{-6}$	25	$3,6 . 10^{-6}$	12	$2,2 . 10^{-6}$	6	$1,7 . 10^{-6}$	— 67	$9,6 . 10^{-8}$
0,5	$3,4 . 10^{1}$	119	$1,5 . 10^{-4}$	$4,4 . 10^{-4}$	35	$5,5 . 10^{-6}$	26	$3,8 . 10^{-6}$	— 4	$1,2 . 10^{-6}$	— 17	$6,9 . 10^{-7}$	— 84	$5,0 . 10^{-8}$
0,25	$1,7 . 10^{1}$	133	$2,6 . 10^{-4}$	$1,5 . 10^{-3}$	39	$6,4 . 10^{-6}$	28	$4,2 . 10^{-6}$	— 21	$6,0 . 10^{-7}$	— 30	$4,1 . 10^{-7}$	— 114	$1,5 . 10^{-8}$
0,125	$8,5 . 10^{0}$	155	$6,4 . 10^{-4}$	$7,5 . 10^{-3}$	39	$6,4 . 10^{-6}$	31	$4,8 . 10^{-6}$	— 42	$2,6 . 10^{-7}$	— 48	$2,1 . 10^{-7}$	— 127	$8,9 . 10^{-9}$
0,063	$4,3 . 10^{0}$	175	$1,4 . 10^{-3}$	$3,3 . 10^{-2}$	38	$6,2 . 10^{-6}$	28	$4,2 . 10^{-6}$	— 61	$1,2 . 10^{-7}$	— 66	$1,0 . 10^{-7}$	— 131	$7,6 . 10^{-9}$
0,031	$2,1 . 10^{0}$	197	$3,3 . 10^{-3}$	$1,6 . 10^{-1}$	35	$5,5 . 10^{-6}$	28	$4,2 . 10^{-6}$	— 84	$4,9 . 10^{-8}$	— 95	$3,2 . 10^{-8}$	— 133	$7,2 . 10^{-9}$
0,016	$1,1 . 10^{0}$	199	$3,7 . 10^{-3}$	$3,4 . 10^{-1}$	32	$4,9 . 10^{-6}$	33	$5,0 . 10^{-6}$	— 98	$2,9 . 10^{-8}$	— 105	$2,1 . 10^{-8}$	— 141	$5,1 . 10^{-9}$
0,008	$5,3 . 10^{-1}$	198	$3,4 . 10^{-3}$	$6,4 . 10^{-1}$	34	$5,2 . 10^{-6}$	34	$5,2 . 10^{-6}$	— 106	$2,0 . 10^{-8}$	— 104	$2,2 . 10^{-8}$	— 140	$5,4 . 10^{-9}$
0,004	$2,7 . 10^{-1}$	202	$4,1 . 10^{-3}$	$1,5 . 10^{0}$	30	$4,5 . 10^{-6}$	31	$4,8 . 10^{-6}$	— 115	$1,4 . 10^{-8}$	— 118	$1,3 . 10^{-8}$	— 144	$4,6 . 10^{-9}$
0,002	$1,3 . 10^{-1}$	—	—	—	32	$4,9 . 10^{-6}$	31	$4,8 . 10^{-6}$	— 118	$1,3 . 10^{-8}$	— 122	$1,1 . 10^{-8}$	— 147	$4,0 . 10^{-9}$
0,001	$6,6 . 10^{-2}$	—	—	—	32	$4,9 . 10^{-6}$	28	$4,2 . 10^{-6}$	— 120	$1,2 . 10^{-8}$	— 123	$1,0 . 10^{-8}$	— 150	$3,5 , 10^{-9}$
ohne Zusatz v. Kollargol	—	193	$2,9 . 10^{-3}$	—	—	—	—	—	— 142	$4,9 . 10^{-9}$	— 144	$4,6 . 10^{-9}$	— 156	$2,9 . 10^{-9}$

Tabelle VI und VII.

Jodkollargolpräparate. Bestimmung der Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung und in Rinderblutserum.

Jodkollargol I. Silbergehalt des Präparates: 32,10 Proz.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
		Bestimmung der [Ag'] der Lösungen in								
		Wasser			NaCl-Lösung $v = 2 . 11{,}96$ Liter		altem Serum		frischem Serum	
			[Ag']							
Gehalt an Jodkollargol (g in 100 ccm)	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	ε_c (Millivolt)	berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	Proz. des Silbergehalts	ε_c (Millivolt)	[Ag'] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	ε_c (Millivolt)	[Ag'] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	ε_c (Millivolt)	[Ag'] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)
4	1,2 . 10^{2}	— 169	1,7 . 10^{-9}	1,4 . 10^{-9}	— 164	2,1 . 10^{-9}	— 177	1,2 . 10^{-9}	— 179	1,1 . 10^{-9}
2	6,0 . 10^{1}	— 157	2,7 . 10^{-9}	4,5 . 10^{-9}	— 147	4,0 . 10^{-9}	— 168	1,7 . 10^{-9}	— 171	1,6 . 10^{-9}
1	3,0 . 10^{1}	— 143	4,8 . 10^{-9}	1,6 . 10^{-8}	— 130	7,9 . 10^{-8}	— 162	2,3 . 10^{-9}	— 163	2,1 . 10^{-9}
0,5	1,5 . 10^{1}	— 125	9,3 . 10^{-9}	6,2 . 10^{-8}	— 115	1,4 . 10^{-8}	— 154	3,1 . 10^{-9}	— 155	3,0 . 10^{-9}
0,25	7,4 . 10^{0}	— 113	1,6 . 10^{-8}	2,2 . 10^{-7}	— 102	2,4 . 10^{-8}	— 152	3,3 . 10^{-9}	— 150	3,6 . 10^{-9}
0,125	3,7 . 10^{0}	— 94	3,3 . 10^{-8}	8,9 . 10^{-7}	— 89	4,0 . 10^{-8}	— 147	4,0 . 10^{-9}	— 149	3,8 . 10^{-9}
0,063	1,9 . 10^{0}	— 72	8,1 . 10^{-8}	4,3 10^{-6}	— 71	8,3 . 10^{-8}	— 144	4,7 . 10^{-9}	— 147	4,0 . 10^{-9}
0,031	9,3 . 10^{-1}	— 58	1,4 . 10^{-7}	1,5 . 10^{-5}	— 49	2,0 . 10^{-7}	— 141	5,0 . 10^{-9}	— 145	4,4 . 10^{-9}

Jodkollargol II. Silbergehalt des Präparates: 29,97 Proz.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
4	1,1 . 10^{2}	— 227	1,7 . 10^{-10}	1,5 . 10^{-10}	— 225	1,8 . 10^{-10}	— 221	2,2 . 10^{-10}	— 224	1,9 . 10^{-10}
2	5,6 . 10^{1}	— 210	3,3 . 10^{-10}	5,9 . 10^{-10}	— 207	3,8 . 10^{-10}	— 203	4,5 . 10^{-10}	— 210	3,4 . 10^{-10}
1	2,8 . 10^{1}	— 193	6,6 . 10^{-10}	2,4 . 10^{-9}	— 188	8,0 . 10^{-10}	— 193	6,5 . 10^{-10}	— 193	6,5 . 10^{-10}
0,5	1,4 . 10^{1}	— 178	1,2 . 10^{-9}	8,6 . 10^{-9}	— 171	1,6 . 10^{-9}	— 174	1,4 . 10^{-9}	— 180	1,1 . 10^{-9}
0,25	7,0 . 10^{0}	— 156	2,9 . 10^{-9}	4,0 . 10^{-8}	— 154	3,1 . 10^{-9}	— 159	2,5 . 10^{-9}	— 164	2,0 . 10^{-9}
0,125	3,5 . 10^{0}	— 137	5,9 . 10^{-9}	1,7 . 10^{-7}	— 139	5,6 . 10^{-9}	— 142	4,9 . 10^{-9}	— 157	2,7 . 10^{-9}
0,063	1,7 . 10^{0}	— 125	9,3 . 10^{-9}	5,5 . 10^{-7}	— 115	1,4 . 10^{-8}	— 138	5,8 . 10^{-9}	— 152	3,3 . 10^{-9}
0,031	8,7 . 10^{-1}	— 107	2,0 . 10^{-8}	2,3 . 10^{-6}	— 92	3,6 . 10^{-8}	— 129	8,1 . 10^{-9}	— 147	4,0 . 10^{-9}

Präparat II enthält 2 Proz. Silber oder annähernd 5 Proz. Silberjodid weniger, als es nach den Angaben der Fabrik haben sollte. Die Versuche zeigen also aufs neue, daß der Silbergehalt der medizinischen Silberpräparate derselben Art, selbst wenn sie von der gleichen Fabrik hergestellt wurden, Schwankungen unterliegt. Auch in der Konzentration des Silberions unterscheiden sich die beiden Präparate, da Jodkollargol I in der 4proz. wässerigen Lösung $1,7 \cdot 10^{-9}$, Jodkollargol II $1,7 \cdot 10^{-10}$ mg-Ion in 1 Liter enthält. Beim Verdünnen dieser Lösungen nimmt die Silberion-Konzentration in beiden Präparaten zu, und zwar enthält die 0,031proz. Lösung von Präparat I $1,4 \cdot 10^{-7}$, von Präparat II $2,0 \cdot 10^{-8}$ mg-Ion $Ag^{\cdot}$ in 1 Liter (Tabellen VI und VII, Abb. 3).

3. *Solargyl* ist nach den Angaben im Schrifttum[1]) eine Verbindung von Silberoxyd mit Proteosen und deren Abbauprodukten. Es soll 30 Proz. Silber enthalten. Das benutzte Präparat zeigte in drei analytischen Bestimmungen einen Silbergehalt von 26,65 Proz. im Mittel. In den wässerigen Lösungen nimmt die Konzentration des Silberions (Tabelle VIII) von $1,7 \cdot 10^{-3}$ der 4proz. bis $2,4 \cdot 10^{-2}$ mg-Ion in 1 Liter der 0,031proz. Lösung zu (Abb. 4).

Tabelle VIII.

Solargyl. Bestimmung der Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung und in Rinderblutserum.

Silbergehalt des Präparats 26,65 Proz.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Gehalt an Solargyl (g in 100 ccm)	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	Bestimmung der [Ag·] der Lösungen in						
		Wasser			NaCl-Lösung $v = 2 \cdot 11,96$ Liter		Serum	
		ε_C (Millivolt)	[Ag·] berechnet aus ε_C (mg-Ion in 1 Liter)	[Ag·] Proz. des Silbergehalts	ε_C (Millivolt)	[Ag·] berechnet aus ε_C (mg-Ion in 1 Liter)	ε_C (Millivolt)	[Ag·] berechnet aus ε_C (mg-Ion in 1 Liter)
4	$9,9 \cdot 10^1$	180	$1,7 \cdot 10^{-3}$	$1,7 \cdot 10^{-3}$	51	$1,0 \cdot 10^{-5}$	47	$8,7 \cdot 10^{-6}$
2	$4,9 \cdot 10^1$	183	$1,9 \cdot 10^{-3}$	$3,9 \cdot 10^{-3}$	51	$1,0 \cdot 10^{-5}$	44	$7,7 \cdot 10^{-6}$
1	$2,5 \cdot 10^1$	189	$2,4 \cdot 10^{-3}$	$9,6 \cdot 10^{-3}$	47	$8,7 \cdot 10^{-6}$	37	$5,9 \cdot 10^{-6}$
0,5	$1,2 \cdot 10^1$	201	$3,9 \cdot 10^{-3}$	$3,3 \cdot 10^{-2}$	45	$8,1 \cdot 10^{-6}$	39	$6,4 \cdot 10^{-6}$
0,25	$6,2 \cdot 10^0$	225	$1,0 \cdot 10^{-2}$	$1,6 \cdot 10^{-1}$	43	$7,5 \cdot 10^{-6}$	28	$4,2 \cdot 10^{-6}$
0,125	$3,1 \cdot 10^0$	245	$2,3 \cdot 10^{-2}$	$7,4 \cdot 10^{-1}$	38	$6,2 \cdot 10^{-6}$	4	$1,6 \cdot 10^{-6}$
0,063	$1,5 \cdot 10^0$	250	$2,8 \cdot 10^{-2}$	$1,9 \cdot 10^0$	42	$7,1 \cdot 10^{-6}$	-19	$6,4 \cdot 10^{-7}$
0,031	$7,7 \cdot 10^{-1}$	247	$2,4 \cdot 10^{-2}$	$3,1 \cdot 10^0$	41	$7,0 \cdot 10^{-6}$	-40	$2,8 \cdot 10^{-7}$

Die zur Prüfung des Verhaltens der Silberpräparate in Körperflüssigkeiten vorgenommenen Untersuchungen ihrer Lösungen in

[1]) Pharmazeutische Zentralhalle **54**, 264, 1913; Münch. med. Wochenschrift **60**, 2788, 1913.

Blutserum und in einer diesem an Chlor äquivalenten Natriumchloridlösung führten zu folgenden Ergebnissen:

Die Gemische der Lösungen von Silberpräparaten mit Natriumchloridlösung zeigen im allgemeinen eine Silberion-Konzentration, deren Größenordnung mit den früher ermittelten Werten übereinstimmt. Nur bei Jodkollargol nehmen die Kurven der Werte für diese Gemische einen von den übrigen Präparaten abweichenden Verlauf, da sie beim Verdünnen von 2,1 . 10^{-9} (Präparat I) bzw. 1,8 . 10^{-10} (Präparat II) der 4proz. Lösung bis 2,0 . 10^{-7} (Präparat I) bzw. 3,6 . 10^{-8} (Präparat II) der 0,031proz. Lösung ansteigen. Auch liegen sie etwas über den Kurven für die wässerigen Lösungen, was wahrscheinlich durch die Bildung von Silberchlorid verursacht wird, dessen Löslichkeitsprodukt größer als das des Silberjodids ist.

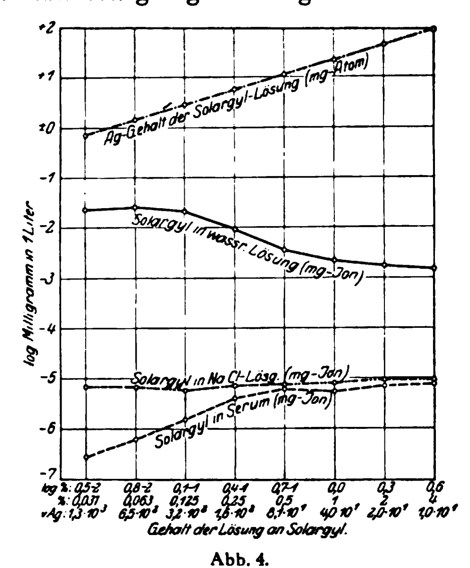


Abb. 4.

Solargyl. Konzentration des Silberions der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung $v = 11{,}96$ Liter und in Rinderblutserum. (Graphische Darstellung der Tabelle VIII.)

In den Gemischen mit Serum liegen die Werte der Silberion-Konzentration auch hier wieder unter denen mit Natriumchloridlösung. Der bei den früheren Untersuchungen aufgetretene Parallelismus der Natriumchlorid- und Serumkurven tritt bei Argobol und in den Verdünnungen von 0,5 bis 4 Proz. bei Solargyl und den Jodkollargolpräparaten in Erscheinung. Die übrigen Präparate verhalten sich meist ähnlich dem in der ersten Mitteilung beschriebenen Kollargol und Elektrokollargol, bei denen die Werte der Konzentration des Silberions der Gemische mit Natriumchloridlösung und mit Serum in den stärkeren Konzentrationen zwar nahe beieinander liegen, mit zunehmender Verdünnung jedoch weiter auseinandergehen, da die Werte für die Serumgemische sich den in reinem Serum ohne Zusatz von Silberpräparat erhaltenen mehr und mehr nähern. Die beiden Jodkollargolpräparate I und II wurden in 5 Tage altem und in frischem Serum untersucht. Bei Präparat I sind die gefundenen Unterschiede so gering, daß die beiden Punkte der entsprechenden Lösungen auf der Kurve fast immer zusammenfallen und deshalb eine besondere Kurve für frisches Serum nicht eingezeichnet wurde. Bei Jodkollargol II

traten zwar in den verdünnteren Lösungen größere Unterschiede auf, in den konzentrierteren Gemischen liegen die Werte jedoch nahe beieinander. Das Alter des Serums war demnach ohne wesentlichen Einfluß auf die Größe der Silberion-Konzentration der beiden Präparate.

Die Untersuchung von Kollargol in Blut führte zu den gleichen Ergebnissen, wie sie mit diesem Präparat bei der früheren Untersuchung erzielt worden sind. In den stärkeren Verdünnungen nähern sich die Werte der Silberion-Konzentration immer mehr dem in Blut ohne Zusatz von Präparat erhaltenen.

Aus dem Verhalten dieser Silberpräparate in ihren Lösungen in Wasser ergibt sich die Bestätigung, daß durch Messen der Konzentration des Silberions mit Hilfe der elektrometrischen Methode weitgehende Schlüsse auf die Konstitution der Präparate gezogen werden können. So verhalten sich die zur ersten Gruppe gehörigen Präparate ähnlich den normalen Silbersalzen, während die der zweiten und dritten Gruppe mehr oder weniger komplexen Charakter haben. Die Unterschiede im Gesamtsilbergehalt verschiedener Präparate derselben Art bedingen auch verschiedenen Gehalt an Silberionen der wässerigen Lösung. Da diese Unterschiede auch in den Gemischen mit Natriumchloridlösung, Serum und Blut in Erscheinung treten, so ist diese Feststellung von Wichtigkeit für die Beurteilung des Verhaltens der Silberpräparate bei ihrer medizinischen Anwendung.

Anhang.

Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Gase auf die elektromotorische Kraft des Systems Silber—silberfreies Lösungsmittel.

Wie schon früher[1]) erwähnt wurde, entsteht in Wasser oder anderen Lösungsmitteln beim Eintauchen der Silberelektrode eine elektromotorische Kraft, auch wenn sie kein Silber enthalten. Da bei der eingehaltenen Versuchsanordnung Diffusionspotentiale nicht auftreten konnten, ist das Entstehen der elektromotorischen Kraft nur auf die elektrolytische Lösungstension des Silbermetalles in silberfreien Lösungsmitteln zurückzuführen. Möglicherweise könnten aber auch die in der Luft vorhandenen Gase, auf deren Anwesenheit bei diesen Versuchen keine Rücksicht genommen worden war, die Größe der elektrolytischen Lösungstension des Metalles beeinflußt haben. Um den etwaigen Einfluß festzustellen, wurden die Potentiale der Systeme Silber—Wasser und Silber—Serum gemessen, wobei die Flüssigkeit nacheinander mit Luft, Wasserstoff, Sauerstoff, Kohlendioxyd und Stickstoff gesättigt war. Diese Gase waren nach den bei *L. Moser*[2]) angegebenen Verfahren

---

[1]) Diese Zeitschr. 148, 390, 1924.

[2]) Die Reindarstellung von Gasen. Stuttgart, Ferd. Enke, 1920.

hergestellt und gereinigt. Die Messungen, deren Ergebnisse in den Tabellen IX bis XV zusammengestellt sind, waren bei + 18° C vorgenommen worden.

Beim Eintauchen der Silberelektrode in *destilliertes Wasser* bei Gegenwart von Luft (Tabelle IX) entsteht ein Potential von 186 Milli-

Tabelle IX.

Elektromotorische Kraft des Systems Silber-Wasser.

1	2	3	4	5	6
Versuch	Flüssigkeit	Zeit der Messung (Min.)	ε_C (Millivolt)	$[Ag^{\cdot}]$ berechnet aus ε_C (mg-Ion in 1 Liter)	Bemerkungen
1	Destilliertes Wasser in Berührung mit Luft	0	182	$1{,}7 . 10^{-3}$	
		30	187	$2{,}1 . 10^{-3}$	
		60	187	$2{,}1 . 10^{-3}$	
		120	186	$2{,}0 . 10^{-3}$	
2	Destilliertes Wasser, durch 15 Minuten langes Kochen von Luft befreit	0	225	$9{,}3 . 10^{-3}$	Elektrode wurde 15 Minuten im Glasrohr erhitzt
		30	219	$7{,}4 . 10^{-3}$	

Tabelle X.

Elektromotorische Kraft des Systems Silber—Wasser in Wasserstoffatmosphäre.

1		2	3	4
Zeit der Messung		ε_C (Millivolt)	$[Ag^{\cdot}]$ berechnet aus ε_C (mg-Ion in 1 Liter)	Bemerkungen
Stunden	Minuten			
	0	—	—	Beginn des Einleitens von Wasserstoff
1	0	— 2	$1{,}1 . 10^{-6}$	
1	20	— 24	$4{,}5 . 10^{-7}$	
1	30	— 30	$3{,}6 . 10^{-7}$	
3	15	— 44	$2{,}0 . 10^{-7}$	
4	5	— 44	$2{,}0 . 10^{-7}$	
4	10	—	—	Einleiten beendet
23	0	— 8	$8{,}9 . 10^{-7}$	
24	0	— 8	$8{,}9 . 10^{-7}$	

Tabelle XI.

Elektromotorische Kraft des Systems Silber—Wasser in Sauerstoffatmosphäre.

	0	—	—	Beginn des Einleitens von Sauerstoff
1	15	34	$4{,}6 . 10^{-6}$	
3	25	13	$2{,}0 . 10^{-6}$	
9	25	10	$1{,}8 . 10^{-6}$	
9	40	10	$1{,}8 . 10^{-6}$	
9	45	—	—	Einleiten beendet
22	40	36	$5{,}1 . 10^{-6}$	
23	45	36	$5{,}1 . 10^{-6}$	

volt, das einer Silberion-Konzentration von 2,0 . 10^{-3} mg-Ion Ag˙ in 1 Liter entspricht. Bei Verwendung von ausgekochtem Wasser tritt eine geringe Erhöhung dieses Wertes ein. In Wasserstoffatmosphäre (Tabelle X) sinkt das Potential der Kette auf — 44 Millivolt, entsprechend 2,0 . 10^{-7}, in Sauerstoffatmosphäre (Tabelle XI) auf 10 Millivolt, entsprechend 1,8 . 10^{-6}, während die Kette beim Sättigen des Wassers mit Kohlendioxyd (Tabelle XII) ein Potential von 37 Millivolt, entsprechend 5,2 . 10^{-6}, beim Sättigen mit Stickstoff (Tabelle XIII) ein solches von 39 Millivolt, entsprechend 5,6 . 10 ^{6} mg-Ion Ag˙ in 1 Liter anzeigt.

Tabelle XII.

Elektromotorische Kraft des Systems Silber—Wasser in Kohlendioxydatmosphäre.

1		2	3	4
Zeit der Messung		ε_C (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_C (mg-Ion in 1 Liter)	Bemerkungen
Stunden	Minuten			
	0	—	—	Beginn des Einleitens von Kohlendioxyd
1	20	58	1,2 . 10^{-5}	
5	30	37	5,2 . 10^{-6}	
5	50	37	5,2 . 10^{-6}	
6	0	—	—	Einleiten unterbrochen, Zutritt von Luft
18	40	59	1,3 . 10^{-5}	
20	15	65	1,6 . 10^{-5}	
20	35	—	—	Einleiten von Kohlendioxyd fortgesetzt
20	45	59	1,3 . 10^{-5}	
20	55	59	1,3 . 10^{-5}	

Tabelle XIII.

Elektromotorische Kraft des Systems Silber—Wasser in Stickstoffatmosphäre.

	0	—	—	Beginn des Einleitens von Stickstoff
	45	104	7,6 . 10^{-5}	
1	5	70	1,7 . 10^{-5}	
4	0	57	1,2 . 10^{-5}	
4	10	39	5,6 . 10^{-6}	
4	15	—	—	Einleiten beendet
4	25	—	—	Beginn des Einleitens von Luft
4	35	56	1,1 . 10^{-5}	
5	55	59	1,3 . 10^{-5}	
6	30	59	1,3 . 10^{-5}	
6	35	—	—	Einleiten beendet
16	45	55	1,1 . 10^{-5}	
17	55	55	1,1 . 10^{-5}	

Während also beim System Silber—Wasser die eingeleiteten Gase eine zum Teil beträchtliche Verminderung des Potentials der Kette bewirken, wird im System Silber—*Rinderblutserum*, das bei Gegenwart von Luft ein Potential von — 138 Millivolt, entsprechend 4,9 . 10^{-9} mg-

Ion Ag˙ in 1 Liter ergibt, beim Sättigen mit Wasserstoff (Tabelle XV) ε_c auf —76 Millivolt, entsprechend 5,8 . 10^{-8}, beim Sättigen mit Kohlendioxyd (Tabelle XIV) auf —3 Millivolt, entsprechend 1,1 . 10^{-6} mg-Ion Ag˙ in 1 Liter, erhöht.

Tabelle XIV.

Elektromotorische Kraft des Systems Silber—Rinderblutserum in Kohlendioxydatmosphäre.

1	2	3	4	5
Versuch	Zeit der Messung (Minuten)	ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	Bemerkungen
1	0	—	—	Beginn des Einleitens von Kohlendioxyd
	10	—	—	Elektrode eingetaucht
	11	— 3	1,1 . 10−6	
	12	— 3	1,1 . 10−6	
2	0	—	—	Beginn des Einleitens von Kohlendioxyd bei eingetauchter Elektrode
	1	—86	3,8 . 10−8	
	7	—34	3,0 . 10−7	
	10	—17	6,1 . 10−7	
3	0	—	—	Beginn des Einleitens von Kohlendioxyd bei eingetauchter Elektrode
	1	—89	3,4 . 10−8	
	8	—74	6,3 . 10−8	
	10	—60	1,1 . 10−7	

Tabelle XV.

Elektromotorische Kraft des Systems Silber—Rinderblutserum in Wasserstoffatmosphäre.

1	0	—	—	Beginn des Einleitens von Wasserstoff
	5	—	—	Elektrode eingetaucht
	6	—73	6,6 . 10−8	
	10	—76	5,8 . 10−8	
	13	—76	5,8 . 10−8	
2	0	—	—	Beginn des Einleitens von Wasserstoff
	5	—	—	Elektrode eingetaucht
	8	—71	6,9 . 10−8	
	14	—78	5,4 . 10−8	

Auf ähnliche Weise mit $^1/_{100}$ n-*Silbernitratlösung* durchgeführte Versuche (Tabelle XVI) ergaben, daß das Potential beim Sättigen der Silberlösung mit Wasserstoff nur wenig verändert wird. Nach 2 Stunden ist es von 399 auf 393 Millivolt gesunken. Diese Beobachtung stimmt mit der bereits von *A. Jaques*[1]) angegebenen überein, der bei ähnlichen Versuchen mit $^1/_{10}$ n-Silbernitratlösung feststellte, daß das Potential der Kette innerhalb einer Stunde um etwa 2 bis

[1]) Transact. of the Faraday Society 5, 1909, Part III.

Tabelle XVI.
Elektromotorische Kraft des Systems Silber-$^1/_{100}$ n-Silbernitratlösung in Wasserstoff- und Sauerstoffatmosphäre.

1	2	3	4	5	6
Versuch	Gas	Zeit der Messung (Minuten)	ε_c (Millivolt)	[Ag˙] berechnet aus ε_c (mg-Ion in 1 Liter)	Bemerkungen
1	Wasserstoff	0	—	—	Beginn des Einleitens von Wasserstoff
		58	—	—	Elektrode eingetaucht
		60	399	$9{,}6 \cdot 10^0$	
		65	399	$9{,}6 \cdot 10^0$	
		75	395	$8{,}5 \cdot 10^0$	
		95	395	$8{,}5 \cdot 10^0$	
		125	393	$7{,}8 \cdot 10^0$	
2	Sauerstoff	0	—	—	Beginn des Einleitens von Sauerstoff
		50	—	—	Elektrode eingetaucht
		52	389	$6{,}4 \cdot 10^0$	
		60	389	$6{,}4 \cdot 10^0$	

3 Millivolt abnahm. Etwas größer wird die Abnahme des Potentials beim Einleiten von Sauerstoff. Hier geht es während einer Stunde um 10 Millivolt zurück. Mit den von *A. Jaques* an gleicher Stelle angeführten Ergebnissen läßt sich dieser Befund jedoch nicht gut vergleichen, da er vor dem Einleiten von Sauerstoff die Silberlösung bereits mehrere Stunden mit Wasserstoff und darauf mit Kohlendioxyd behandelt hatte.

Diese Versuche zeigen, daß die in der Luft vorhandenen Gase, wenn sie einzeln und im Überschuß angewandt werden, eine Vergrößerung des im silberfreien destillierten Wasser entstehenden Potentials nicht hervorrufen.

Zusammenfassung.

1. Von den hier untersuchten Silberpräparaten gehören nach ihrem Verhalten in wässeriger Lösung zur ersten Gruppe: Dispargen, Fulmargin und Argobol, deren Silberion-Konzentration mit steigender Verdünnung abnimmt. Bei den Silbersalvarsanbasen bleibt die Konzentration des Silberions mit zunehmender Verdünnung annähernd konstant. Zur dritten Gruppe der Präparate, deren Silberion-Konzentration mit steigender Verdünnung zunimmt, gehören Kollargol, Jodkollargol und Solargyl.

2. Bei Dispargen bewegt sich die Silberion-Konzentration zwischen $2{,}1 \cdot 10^{-3}$ in der 0,016proz. und $1{,}2 \cdot 10^{-1}$ mg-Ion in 1 Liter in der 2proz. Lösung; bei Fulmargin fällt sie von $2{,}4 \cdot 10^0$ in der unverdünnten bis $3{,}4 \cdot 10^{-2}$ mg-Ion in 1 Liter in der 1,56 ccm in 100 ccm enthaltenden Lösung; in der halbgesättigten Lösung von Argobol sind $9{,}5 \cdot 10^{-2}$ mg-Ion Ag˙ in 1 Liter vorhanden; beim Verdünnen sinkt die Silberion-Konzentration bis $3{,}1 \cdot 10^{-3}$ in der $^1/_{64}$-gesättigten Lösung.

3. In den gesättigten Lösungen der beiden untersuchten Silbersalvarsanbasen sowie in deren Verdünnungen hält sich die Silberion-Konzentration auf etwa 1 . 10^{-4} mg-Ion in 1 Liter.

4. Bei Kollargol steigt die Konzentration des Silberions von 3,7 . 10^{-5} in der 4proz. auf 4,1 . 10^{-3} mg-Ion in 1 Liter in der 0,004proz. Lösung, bei Solargyl von 1,7 . 10^{-3} in der 4proz. auf 2,4 . 10^{-2} in der 0,031proz. Lösung. In den beiden untersuchten Präparaten von Jodkollargol nimmt die Silberion-Konzentration von 1,7 . 10^{-9} (Präparat I) bzw. 1,7 . 10^{-10} (Präparat II) in der 4proz. bis 1,4 . 10^{-7} (Präparat I) bzw. 2,0 . 10^{-8} (Präparat II) mg-Ion in 1 Liter in der 0,031proz. Lösung zu. Nach diesen Ergebnissen verhalten sich diese Präparate wie komplexe Silberverbindungen.

5. In ihren Gemischen mit Natriumchloridlösung, Serum und Blut verhalten sich die untersuchten Präparate im allgemeinen ähnlich den in der ersten Mitteilung beschriebenen. Die dort gemachten Feststellungen finden durch diese Untersuchungen eine neue Bestätigung.

6. Die in silberfreien Lösungen beim Eintauchen der Silberelektrode auftretende elektromotorische Kraft ist auf die elektrolytische Lösungstension des Metalles zurückzuführen. Versuche mit den Systemen Silber—Wasser und Silber—Blutserum in Atmosphären von Wasserstoff, Sauerstoff, Stickstoff und Kohlendioxyd im Vergleich mit Luft zeigten, daß die Anwesenheit von Luft auf das Potential dieser Systeme ohne wesentlichen Einfluß ist.

Über die Giftwirkung des Neutralrots.

Von

G. Politzer.

(Aus dem embryologischen Institut der Wiener Universität und aus der Lupusheilstätte in Wien, Lichtinstitut.)

(Eingegangen am 25. Juli 1924.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Das Neutralrot (Toluylenrot)

N

CH_3

$(CH_3)_2N$ $NH_2 . HCl$

N

wurde 1879 von *Witte* dargestellt und von *Ehrlich* in die histologische Technik eingeführt. Da es lebende Gewebe schnell färbt und nur sehr langsam abblaßt, nimmt es unter den Vitalfarbstoffen heute den ersten Rang ein. Im Vertrauen auf die vollkommene Unschädlichkeit der Substanz werden aus den an vital gefärbten Geweben erhobenen Befunden weitgehende Schlüsse auf den Aufbau und die normale Funktion der untersuchten Organe gezogen.

Bei der Durchsicht der Literatur finden sich jedoch Angaben, die mit einer „vollkommenen Unschädlichkeit" des Neutralrots nicht vereinbar sind. *Fischel*, der 1900 eingehende Untersuchungen über vitale Färbung angestellt hat, berichtet über das Neutralrot, daß er es dem Bismarckbraun, Methylenblau und Nilblau vorziehe: „Trotz dieser großen Affinität der Larvenzellen zum Neutralrot ist das letztere dennoch kein für das normale Zelleben indifferenter Körper. Die mit ihm gefärbten Tiere bleiben bis zum Ende der Larvenperiode ihren gleichalten, aber ungefärbten Genossen gegenüber um fast ein Drittel der Körpergröße zurück[1])." Für diese hochgradige Wachstumsstörung weiß *Fischel* jedoch keinen stichhaltigen Grund anzuführen. Nur in einer Anmerkung weist er auf die Möglichkeit einer Schädigung der

[1]) *H. v. Tappeiner* hat im Verlaufe seiner photodynamischen Untersuchungen gesehen, daß Paramaecien in Neutralrotlösungen von 1 : 40000 auch im Dunkeln eingingen.

gefärbten Larven durch Unterernährung hin, da sie infolge der Rotfärbung ihrer Cornea schlechter sehen und somit ihre Nahrung schwerer finden können.

Die Wachstumsstörung ist aber gerade in den ersten Tagen nach der Färbung am deutlichsten. Für diese Zeit kommt jedoch der *Fischel*sche Erklärungsversuch nicht in Betracht, da im Beginn einer Hungerperiode erst Wachstumssteigerung (Vermehrung der Mitosenzahlen) eintritt, um erst zu einem späteren Zeitpunkt in die Hungeratrophie überzugehen (*Kornfeld*).

Wir werden somit als Erklärung der Wachstumsschädigung eine direkte Beeinflussung des Zellteilungsrhythmus oder der Zellteilung selbst durch Neutralrot erwarten müssen. Daraus ergab sich folgende Fragestellung:

1. Welches ist das morphologische Substrat der Neutralrotschädigung?
2. Sind diese morphologischen Veränderungen
   a) auf die mechanische Schädigung der Zellen durch Überladung mit Neutralrot, oder
   b) auf eine Giftwirkung des Neutralrots an sich, oder
   c) auf photodynamische Wirkungen des Neutralrots zurückzuführen?

Zu a): Der Gedanke einer mechanischen Schädigung ist naheliegend, wenn wir uns etwa folgenden Befund *Fischels* vergegenwärtigen. Dieser konnte zeigen, daß die Neutralrotgranula in den die Nasenöffnung von Salamanderlarven umgebenden Epithelzellen so zahlreich sind und so dicht liegen, daß von einem ungefärbten Protoplasma nahezu nichts zu sehen ist.

Zu c): Die Frage einer Sensibilisierung gegen Licht ist ebenfalls zu erörtern. *Tappeiner* konnte 1899 nachweisen, daß Paramaecien in vielen, im Dunkeln für sie vollkommen oder nahezu unschädlichen fluoreszierenden Farbstofflösungen nahezu augenblicklich sterben, sobald sie dem Lichte ausgesetzt werden. Gemeinsam mit *Jodlbauer* prüfte er hierauf eine große Reihe von Farbstoffen auf diese Eigenschaft und konnte unter anderem auch das Neutralrot als „photodynamisch" wirksam erweisen. Da die vital gefärbten Tiere ja zumeist im Lichte gehalten werden, ist eine Schädigung der sensibilisierten Zellen durch Licht sehr wohl möglich.

Unsere Versuche wurden an etwa 120 Salamanderlarven durchgeführt. Die Konzentration der Neutralrotlösung betrug 1 : 150000, die Färbedauer 2 Stunden. Die nach der Färbung zu verschiedenen Zeitpunkten in *Bouins* Gemisch fixierten Tiere wurden durch mehrere Tage in Alkohol belassen, um das Neutralrot nach Tunlichkeit zu extrahieren. Als Untersuchungsobjekt diente die Hornhaut, die mit

Hämatoxylin gefärbt und als Stückpräparat in Kanadabalsam eingeschlossen wurde. Das von uns verwendete Neutralrot stammte von der Firma Dr. G. Grübler, Leipzig, und war als Neutralrot zu Injektionen in vitale Gewebe nach *Ehrlich* bezeichnet. Wie ich einer privaten Mitteilung des Professors für Pharmakognosie der Wiener Universität, Herrn Dr. *Wasicky*, entnehme, ist die Färbekraft von Neutralrot verschiedener Provenienz nicht die gleiche. Die folgenden Angaben beziehen sich demnach nur auf die Wirkung des oben genannten Präparates.

Es ist auch daran zu denken, daß aus der Fabrikation stammende Nebenprodukte die Träger der gleich zu beschreibenden Wirkung sind. Streng genommen wird man, wie seinerzeit *W. Hausmann* betont hat, eine derartige Substanz nur dann als die wirksame ansprechen können, wenn sie synthetisch herstellbar und von ihren Ausgangsprodukten befreit ist, oder wenn es möglich ist, aus unwirksamen Abkömmlingen dieser Substanz den wirksamen Ausgangsstoff wiederzugewinnen.

Schon 3 Stunden nach Beginn (1 Stunde nach Beendigung) der Färbung läßt sich eine Abnahme der Zahl der Mitosen in der Hornhaut nachweisen. Gleichzeitig treten abnorme Formen der Karyokinese auf, deren eingehende Beschreibung in einer späteren ausführlichen Arbeit gegeben werden wird. Hier sei nur folgendes erwähnt: Spirem und Aster sind normal. Bei der Metakinese verkleben jedoch die Enden der gegenpoligen Chromosomenschleifen. Dadurch entstehen Diaster mit chromatischen Brücken. Die Tochtersterne gehen sodann ins Dispirem über, ohne daß sich die Chromosomenenden voneinander gelöst hätten. Dies führt zu amitosenähnlichen Bildern, die sich aber durch die Anordnung des Chromatins und durch ihre Entstehung aus mitotischen Teilungsstadien von echten Amitosen unterscheiden. Diese Teilungsfiguren, die in ihrem weiteren Verlaufe zur Entstehung von anisochromatischen Tochterzellen führen, werden als „Pseudoamitosen" (*Haecker*) bezeichnet.

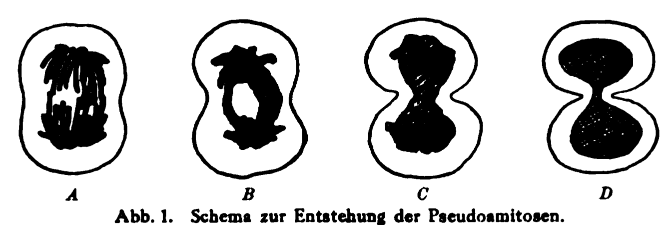


Abb. 1. Schema zur Entstehung der Pseudoamitosen.
A Diaster mit verklumpten Chromosomenenden. *B* Diaster mit einer dicken und einer dünnen chromatischen Brücke. *C* Die Tochtersterne sind ins Dispiremstadium übergegangen, ohne daß sich die Brücken gelöst hätten. *D* Typische Pseudoamitose.

Acht Stunden nach Beginn (6 Stunden nach Beendigung) der Färbung (nur in seltenen Fällen erst nach 12 Stunden) sind die letzten

Teilungen abgelaufen. Die Hornhaut bleibt hierauf durch mehrere Tage völlig mitosenfrei. Dann treten neuerlich Karyokinesen auf, welche zwar ein vollkommen normales Aussehen aufweisen, die aber auch weiterhin an Zahl weit hinter der Norm zurückbleiben. Auch die ruhenden Zellen zeigen deutliche Veränderungen. Die Kerne zahlreicher benachbarter Zellen rücken aneinander und vereinigen sich zur Bildung von Synkaryen. Zwischen benachbarten Synkaryen liegen abnorm breite kernfreie Zonen. Diese Veränderungen sind am ersten Tage nach der Vitalfärbung am deutlichsten, aber auch späterhin noch häufig nachzuweisen.

Wir können damit den ersten Punkt unserer Fragestellung dahingehend beantworten, daß Neutralrot auch in starker Verdünnung eine hochgradige Schädigung des Zellteilungsrhythmus und der Zellteilung selbst hervorzurufen imstande ist.

Ist nun diese Schädigung durch übermäßige Anhäufung des Farbstoffs in den Zellen bedingt? Bestünde diese Vermutung zu Recht, dann müßten andere Vitalfarbstoffe dieselben Veränderungen hervorrufen, vorausgesetzt, daß sie dieselben Granula färben. *Fischel* konnte nur nachweisen, daß die mit Bismarckbraun und die mit Neutralrot gefärbten Granula in gleicher Weise angeordnet sind. Bei Färbung mit Bismarckbraun-Neutralrotgemischen zeigen die Granula durchweg den Mischton beider Farben. Durch diese beiden Beobachtungen ist mit Sicherheit erwiesen, daß Bismarckbraun und Neutralrot die gleichen Granula färben.

Die Untersuchungen, die ich mit Bismarckbraun angestellt habe, blieben jedoch sämtlich ergebnislos. Der Zellteilungsrhythmus ließ keine deutliche Störung erkennen, abnorme Karyokinesen wurden nicht beobachtet. Die Annahme einer mechanischen Schädigung der Zellen durch Überladung mit dem Farbstoff bei der Vitalfärbung ist somit abzulehnen.

Um die toxische Wirkung des Neutralrots von der photodynamischen Wirkung abzugrenzen, wurde in einer weiteren Versuchsreihe die Färbung und Haltung der Larven in absoluter Dunkelheit vorgenommen. In dieser Versuchsreihe war die oben geschilderte Zellschädigung durch das Neutralrot deutlich zu erkennen.

Damit ist zwar die toxische Wirkung des Neutralrots bewiesen, hingegen nichts über Bestehen oder Fehlen einer photodynamischen Wirkung ausgesagt. Um über diesen Punkt ins klare zu kommen, wurden weitere vier Versuchsserien aufgestellt. Die Tiere der ersten Versuchsreihe wurden in schwachem Lichte (dunkle Zimmerecke, 4 m von einem nach NO gerichteten Fenster), die der zweiten in starkem diffusen Tageslicht (Fensterbrett in demselben Zimmer) gehalten, die der dritten durch eine Stunde mit einer 100kerzigen Halbwattlampe

(Abstand 20 cm), unter Vorschaltung einer Küvette mit fließendem Wasser zur Filterung der Wärmestrahlung, belichtet. Die Larven der vierten Versuchsserie wurden durch eine Stunde mit Kohlenbogenlicht (etwa 70 Ampere, 55 Volt, Distanz 80 cm) bestrahlt, wobei die dunkeln Wärmestrahlen durch eine 10 cm dicke Schicht fließenden Wassers, die das Glas nicht passierenden kurzwelligeren Strahlen durch die Glaswände der Kühlkammer, durch eine dicke Glaslinse und durch die Glaswände des die Tiere enthaltenden Gefäßes abgehalten wurden.

Diese Versuche lehrten, daß starke, aber sonst keine nachweisbaren Schädigungen verursachende Belichtung der gefärbten Tiere die mitosenfreie Zeit, die im Dunkelversuch 1 bis 2 Tage betrug, auf 8 Tage verlängert. *Die photodynamische Wirkung des Neutralrots ist somit imstande, die durch die Giftigkeit des Farbstoffs bedingte Zellschädigung zu steigern.*

Die vitale Färbung mit Neutralrot ruft also eine schwere Schädigung des Zellteilungsrhythmus und der Zellteilung selbst hervor, ein Ergebnis, das bei Auswertung von Befunden, die an mit Neutralrot gefärbten Präparaten erhoben wurden, berücksichtigt werden muß.

Literatur.

Alberti-Politzer, Über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf die Zellteilung, Arch. f. mikr. Anat. u. Entw.-Mech. **100**, 1923; **103**, 1924. — *Fischel*, Über vitale Färbung, Anat. Hefte 52/53, 1900. — *Häcker*, Mitosen im Gefolge amitosenähnlicher Vorgänge, Anat. Anz. **17**, 1900. — *Hausmann*, Über die Gewöhnung an Gifte, Ergebn. d. Physiol. **6**, 1907. — *Derselbe*, Grundzüge der Lichtbiologie und Lichtpathologie, VIII. Sonderband zu „Strahlentherapie". Berlin-Wien 1923. — *Kornfeld*, Über den Zellteilungsrhythmus und seine Regelung, Arch. f. Entw.-Mech. **50**, 1922. — *Tappeiner* und *Jodlbauer*, Die sensibilisierende Wirkung fluoreszierender Substanzen. Leipzig 1907.

Nachtrag bei der Korrektur: Seither war es mir möglich, ein Neutralrotpräparat der Firma Leop. Cassella & Co., Frankfurt a. M., welches die Firma in liebenswürdiger Weise Herrn Prof. *Hausmann* zur Verfügung gestellt hatte, in seiner Wirkung auf die Urodelencornea zu untersuchen. Auch in den mit diesem Präparate (Neutralrot, rein, Chlorhydrat) gefärbten Hornhäuten traten Synkaryen und Pseudoamitosen in reichlicher Menge auf.

Über die phytochemische Reduktion des Methyl-α-chlor-äthyl-ketons.

Von

Pietro Santomauro (Palermo).

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 25. Juli 1924.)

Fast alle bisher von *Neuberg* und seinen Mitarbeitern ausgeführten *phytochemischen Reduktionen von Ketonen*[1]) betreffen solche Vertreter dieser Körperklasse, welche Naturprodukte sind oder zu diesen in naher Beziehung stehen. Um nun zu einem Urteil darüber zu gelangen, ob die phytochemische Reduktion auch bei denjenigen Ketonen möglich ist, die mit Sicherheit als „zellfremd" gelten können, schien es mir nicht ohne Interesse, ein *monohalogenisiertes Keton* anzuwenden; ich wählte dazu das *Methyl-α-chlor-äthyl-keton* (*γ-Chlor-β-oxo-butan*), $CH_3-CO-CHCl-CH_3$. Für einen Vertreter der Aldehydreihe liegt bereits die wichtige Beobachtung von *C. J. Lintner* und *H. Lüers*[2]) vor, daß eine Substitution mittels Halogen die Reduzierbarkeit durch gärende Hefe nicht aufhebt. Die genannten Autoren haben nämlich gefunden, daß Chloralhydrat auf diesem Wege in Trichloräthylalkohol übergeführt werden kann; diese Umwandlung erfolgt so leicht, daß sie nach *R. Willstätter* und *W. Duisberg*[3]) bei Einhaltung geeigneter Versuchsbedingungen zu einer ergiebigen Bereitung des Trichloräthylalkohols (sowie entsprechend auch des Tribromäthylalkohols) dienen kann.

Das von mir untersuchte Keton unterscheidet sich vom Chloralhydrat durch seine große physiologische Agressivität, die bekanntermaßen allen niedrigen Mono-halogen-ketonen zukommt. Während der Trichloracetaldehyd, das Chloralhydrat, als ein geruchloses, mäßig starkes Schlafmittel gilt, haben die chlorierten Ketone wegen ihrer intensiven Reizwirkung im vergangenen Weltkriege als Gaskampfmittel gedient[4]).

---

[1]) *C. Neuberg*, *A. Levite*, *F. F. Nord* sowie *E. Färber*, diese Zeitschr. **91**, 257, 1918; **112**, 313, 1920; Ber. **52**, 2237 und 2248, 1919.

[2]) *C. J. Lintner* und *H. Lüers*, H. **88**, 122, 1913.

[3]) *R. Willstätter* und *W. Duisberg*, Ber. **56**, 2283, 1923.

[4]) Vgl. *F. Haber*, 5 Vorträge, Berlin bei Julius Springer, **1924**, S. 92.

Trotz der starken Giftigkeit ist das chlorierte Methyl-äthyl-keton unter den nachstehend beschriebenen Verhältnissen der phytochemischen Reduktion ohne sonderliche Schwierigkeiten zugänglich; es geht in den entsprechenden *chlorierten Butylalkohol*, das *γ-Chlor-β-oxy-butan*, $CH_3-CHOH-CHCl-CH_3$, über, das ich in verhältnismäßig guter Ausbeute erhalten habe. Der Alkohol wird, der biochemischen Natur des Reduktionsvorganges gemäß, in *optisch-aktiver*, und zwar linksdrehender Form gewonnen.

Als Ausgangsmaterial für meine Versuche bediente ich mich käuflichen Methyl-äthyl-ketons, das nach Trocknung über geglühtem Natriumsulfat sorgfältig am Birektifikator fraktioniert wurde. Den bei 79 bis 81° siedenden Anteil habe ich nach der Vorschrift von *D. Vladesco*[1]) halogenisiert, indem ich eine Mischung von gasförmigem Chlor und Kohlendioxyd, die beide Bomben entnommen und durch Schwefelsäure getrocknet waren, einleitete. Das entstandene Erzeugnis zeigte die in der Literatur angegebenen Eigenschaften (Kp. 116°); es besaß einen außerordentlich stechenden Geruch und reizte die Augen in unerträglicher Weise. Am Licht verfärbte sich das chlorierte Keton, während es in einer dunklen Flasche einige Zeit ohne sichtbare Veränderung aufbewahrt werden konnte.

Für die phytochemische Reduktion wurden Ansätze folgender Art angestellt.

200 g Zucker waren in 2 Liter Wasser gelöst und wurden mit 200 g gut abgepreßter untergäriger Hefe zur Gärung gebracht. Sobald die Kohlensäureentwicklung lebhaft geworden war, ließ ich durch einen kleinen Scheidetrichter langsam ein Gemisch von 10 g des Methylchlor-äthylketons mit 30 g Weingeist zutropfen und sorgte durch häufiges Schütteln für schnelle Verteilung des zu reduzierenden Materials. Trotzdem geriet die Gärung ins Stocken. Nach 24 Stunden wurden deshalb von neuem 100 g Hefe hinzugegeben, und da die Gärung wiederum schwach wurde, nach einem weiteren Tage nochmals 100 g Hefe hinzugefügt. Nunmehr ging die Zuckerspaltung in 5 bis 6 Tagen zu Ende. Die gleichzeitige Umwandlung des Chlorketons verriet sich durch Abnahme und endlich durch völliges Verschwinden des beißenden Geruches. Das Gärgut wurde zum Schluß filtriert, die zurückgebliebene Hefe abermals in wenig Wasser suspendiert und abgesaugt.

Der chlorierte Butylalkohol, $CH_3-CHOH-CHCl-CH_3$, konnte nach Sättigung der klaren Flüssigkeit mit Kochsalz durch viermalige Ausätherung gewonnen werden. Durch Verdampfen des über Natriumsulfat getrockneten Ätherextraktes am Birektifikator und nach erneuter Entwässerung des Rückstandes über dem erwähnten Trocknungs-

[1]) *D. Vladesco*, B. [3] 6, 404 und 807, 1891.

mittel gewann ich eine Fraktion, die zwischen 137 und 141° siedete, also um mehr als 20° höher als das Ausgangsmaterial. Bei nochmaliger Fraktionierung ging die Hauptmenge des Chlorbutanols konstant bei 139° über. Dieses Mono-chlor-hydrin wies einen angenehmen Geruch auf und stellte ein kaum schwach gelblich gefärbtes, etwas zähflüssiges Liquidium dar. Im 2-dcm-Rohr zeigte es eine Drehung von — 4,8°.

Im ganzen wurden drei Ansätze in genau der gleichen Weise aufgearbeitet. Die erzielten Ausbeuten betrugen 3 sowie 3,5 und 6 g. Daß tatsächlich das gesuchte 3-Chlorbutanol-(2) vorlag, ergab sich außer durch die typischen Eigenschaften auch durch die Analysen:

0,1767 g Substanz: 0,2379 g AgCl [nach *Carius*],
0,1302 g ,, 0,1723 g AgCl [nach *Mandel* und *Neuberg*[1])],
0,1008 g ,, 0,1627 g CO_2 und 0,0762 g H_2O.

C_4H_9OCl. Ber.: C = 44,24, H = 8,30, Cl = 32,72 Proz.;
gef.: C = 44,02, H = 8,45, Cl = 33,31 ,,
Cl = 32,74 ,,

Bei der Chlorierung von Methyl-äthyl-keton entsteht außer dem γ-Chlor-β-oxo-butan auch das *isomere α-Chlor-β-oxo-butan* (Chlormethyl-äthyl-keton). Es kann durch seinen sehr abweichenden Siedepunkt von der γ-Chlorverbindung abgetrennt werden. Die gleichfalls stechend riechende Verbindung weist ein ähnliches Verhalten auf, und sie läßt sich durch phytochemische Reduktion auch in den zugehörigen chlorierten Butylalkohol überführen. Eine genauere Untersuchung desselben steht noch aus.

---

[1]) *J. A. Mandel* und *C. Neuberg*, diese Zeitschr. 71, 196, 1915.

Die biochemische Umwandlung von unsymmetrischem Di-chlor-aceton in optisch-aktiven α, α-Di-chlor-iso-propyl-alkohol.

Von

H. K. Sen (Calkutta).

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 25. Juli 1924.)

Der Vorgang der *phytochemischen Reduktion*, die durch Hefe herbeigeführt wird, spielt sich nicht nur an Aldehyden ab, sondern erstreckt sich auch nach den Untersuchungen von *C. Neuberg* und *A. Levite*[1]) sowie von *C. Neuberg* und *F. F. Nord*[2]) auf die *Ketone*. Bekanntermaßen lassen sich nach rein chemischen Verfahren Ketone ebenfalls zu den entsprechenden sekundären Alkoholen reduzieren. Allein die gewöhnliche Arbeitsweise des Laboratoriums versagt oder verläuft nicht glatt bei empfindlichen Carbonylverbindungen. Beispielsweise kann man das unsymmetrische Di-chlor-aceton nicht auf die übliche Art in den zugehörigen Di-chlor-iso-propyl-alkohol überführen, weil dabei die sehr beweglichen Halogenatome durch die hydrierenden Mittel ganz oder partiell eliminiert werden. Ferner gelangt man mit rein chemischen Methoden von den inaktiven Ketonen zu den racemischen Alkoholen, die nur mühselig und auf Umwegen in die optisch-aktiven Komponenten zerlegt werden können.

Dagegen haben *Neuberg* und seine Mitarbeiter in den erwähnten Untersuchungen bereits gezeigt, daß leicht veränderliche Carbonylverbindungen auf biochemischem Wege unschwer reduziert werden können und daß sie bei diesem Vorgehen optisch-aktive Alkohole liefern, sofern asymmetrische Kohlenstoffatome im Molekül zugegen sind[1])[3]). Diese Methode habe ich auf ein *zweifach halogenisiertes Keton* übertragen und berichte im folgenden über die *phytochemische Reduktion des α, α-Di-chlor-acetons*, $CHCl_2.CO.CH_3$.

---

1) *C. Neuberg* und *A. Levite*, diese Zeitschr. 91, 257, 1918.
2) *C. Neuberg* und *F. F. Nord*, Ber. 52, 2237 und 2248, 1919.
3) *C. Neuberg, E. Färber* und *F. F. Nord*, diese Zeitschr. 112, 313, 1920

1. Versuch.

250 g Rohrzucker wurden in 2½ Liter Leitungswasser gelöst und noch 40° warm mit 250 g Bierhefe versetzt. Als nach 15 Minuten die Gärung lebhaft war, wurde aus einem Tropftrichter eine Lösung von 10 g reinem α, α-Di-chlor-aceton in der vierfachen Menge Weingeist langsam und unter vielfachem Umschütteln in einem solchen Tempo hinzugegeben, daß pro Minute 3 bis 5 Tropfen einflossen. Die Gärung blieb, wenn auch etwas verzögert, im Gange. Das Gemisch wurde zunächst bei Zimmertemperatur und schließlich eine Nacht im Brutschranke bei 35° aufbewahrt. In 2 bis 3 Tagen war in der Regel sämtlicher Zucker verbraucht. Ist die Hefe nicht kräftig, so kann nach der erwähnten Zeit noch Zucker anwesend sein; er wird zweckmäßig durch Zugabe von neuen Hefemengen zum Verschwinden gebracht. Der durchdringende Geruch des Di-chlor-acetons, der anfangs deutlich wahrzunehmen ist, war am zweiten oder dritten Tage nicht mehr vorhanden.

Das Gärgut wurde filtriert und unter vermindertem Druck destilliert. Zusammen mit dem gebildeten Sprit verflüchtigte sich auch der α, α-Di-chlor-iso-propyl-alkohol. Er wurde aus dem Übergegangenen durch erschöpfende Extraktion mit Äther ausgezogen. Die ätherische Lösung wurde sodann über geglühtem Glaubersalz getrocknet und am Birektifikator eingedampft. Der zurückbleibende Anteil wurde darauf fraktioniert, destilliert und lieferte 5,2 g reinen α, α-Di-chlor-iso-propyl-alkohol, der konstant zwischen 146 und 148° siedete; *A. Wohl* und *H. Roth*[1]) geben den gleichen Siedepunkt für die racemische Verbindung an. Das phytochemische Reduktionsprodukt war *linksdrehend*, und zwar war

$$[\alpha]_D = -8{,}62^0$$
$$(\alpha = -11{,}50^0, \quad 1 = 1, \quad d = 1{,}3334).$$

2. Versuch.

Bei ganz ähnlicher Verarbeitung einer größeren Menge von asymmetrischem Di-chlor-aceton (48 g) und bei Verwendung von Stärkesyrup an Stelle der Saccharose wurden — ohne Berücksichtigung der im wässerigen Rückstande verbliebenen Anteile — 26 g des lävogyren Di-chlor-iso-propyl-alkohols gewonnen, der in diesem Falle bei 147° kochte.

Die spezifische Drehung dieses Produktes betrug

$$[\alpha]_D = -8{,}87^0$$
$$(\alpha = -11{,}88^0, \quad 1 = 1, \quad d = 1{,}3330).$$

---

[1]) *A. Wohl* und *H. Roth*, Ber. 40, 217, 1907.

Die erhaltene Substanz schmeckt süßlich und zugleich brennend. Das Chlor haftet ziemlich fest; beim Kochen mit alkoholischem Silbernitrat wird es nur langsam abgegeben, schnell und unter heftiger Reaktion dagegen bei dem Verfahren von *Mandel* und *Neuberg*[1]), d. h. beim Erwärmen mit Eisessig, konzentriertem H_2O_2 und einer Spur Salpetersäure plus Ferrinitrat.

0,4156 g Substanz: 0,4242 g CO_2 und 0,1770 g H_2O;
0,2506 g ,, 0,5446 g AgCl.

$C_3H_6OCl_2$. Ber.: C = 27,91, H = 4,65, Cl = 55,00 Proz.;
gef.: C = 27,83, H = 4,73, Cl = 54,00 ,, .

Die mitgeteilten Versuche lehren, daß die phytochemische Reduktion beim asymmetrischen Di-chlor-aceton ziemlich glatt verläuft und in befriedigender Ausbeute den α, α-Di-chlor-iso-propyl-alkohol ergibt.

Der biologische Charakter der Reaktion erhellt aus der optischen Aktivität des erzielten Di-chlor-iso-propyl-alkohols. Daß sich in mehreren Fällen das Drehungsvermögen des erhaltenen Di-chlor-iso-propyl-alkohols als gleich herausgestellt hat, kann auf einem Zufall beruhen und beweist nicht mit Sicherheit, daß der auf biochemischem Wege gewonnene α, α-Di-chlor-iso-propyl-alkohol auch im Zustande optischer Reinheit vorgelegen hat. Nichts Bestimmtes läßt sich über einen eventuellen Zusammenhang dieser Substanz mit der Verbindung aussagen, die *E. Sundvik* 1886 als Spaltungsprodukt einer gepaarten Glukuronsäure erhalten hat. Diese wurde nach Verfütterung eines Dichloracetons ausgeschieden. Aus dem Referat[2]) der schwer zugänglichen Originalabhandlung ist nicht zu ersehen, welches der isomeren Dichloracetone von *Sundvik* verfüttert worden ist.

---

[1]) *J. A. Mandel* und *C. Neuberg*, diese Zeitschr. 71, 196, 1915.
[2]) *E. Sundvik*, Malys Jahresber. 16, 76, 1886.

Abhängigkeit der Erregbarkeit des Atemzentrums von dem Gleichgewicht bestimmter Ionen im Blut.

Von

Klothilde Gollwitzer-Meier.

(Aus der medizinischen Klinik der Universität Greifswald.)

(Eingegangen am 26. Juli 1924.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

Die Regulierung der Atmung geschieht durch nervöse und chemische Einflüsse. Die normale Atmung ist nach *Haldane*[1]) der Ausdruck eines Gleichgewichts zwischen chemischen und nervösen Reizen. Für die chemische Atmungsregulation kommen neben zentrogenen Reizen durch Stoffwechselvorgänge im Zentrum selbst hämatogene Reize in Betracht. Nach der von *Winterstein*[2]) zum erstenmal in exakter Weise formulierten Theorie betrachten wir als chemischen Atemreiz die Wasserstoffionenkonzentration des Blutes bzw. des Atemzentrums und nicht die Kohlensäure, die nur vermöge ihrer Säurenatur wirkt. Diese Theorie hat eine weitere Stütze durch Versuche *Hasselbalchs*[3]) erfahren, und ferner durch eine Reihe klinischer Beobachtungen, nach denen auch unter pathologischen Verhältnissen die Blutreaktion sehr konstant gehalten wird, während die Kohlensäurespannung viel größeren Schwankungen unterliegt.

Nimmt man aber an, daß die H-Ionenkonzentration des Blutes den chemischen Reiz für das Atemzentrum darstelle, und daß andererseits die Blutreaktion durch Regulierung der Atemtätigkeit und entsprechende Variierung der CO_2-Spannung möglichst konstant gehalten wird, so ist dafür die selbstverständliche Voraussetzung, daß die Erregbarkeit des Atemzentrums gegenüber dem H-Ionenreiz unverändert bleibt und derselbe Reiz auch immer dieselbe Reizbeantwortung findet. Über die Erregbarkeit des Atemzentrums aber wissen wir sehr wenig. Sie kann durch Pharmaka in hohem Maße gesteigert oder herabgesetzt werden. Ist die Erregbarkeit des Zentrums aber verändert, so wird

---

1) *J. S. Haldane*, Respiration, New Haven 1922.

2) *H. Winterstein*, Arch. f. d. ges. Physiol. **138**, 164, 1911; diese Zeitschr. **70**, 45, 1916.

3) *K. A. Hasselbalch*, diese Zeitschr. **46**, 403, 1912.

das Blut nicht auf seinen normalen H-Ionenspiegel einreguliert, sondern durch entsprechende Erregbarkeitsänderungen des Zentrums bald höher, bald tiefer. Bei verminderter Erregbarkeit des Zentrums muß nach der *Winterstein*schen Theorie die Blutreaktion saurer werden, bei erhöhter Erregbarkeit alkalischer, da die Reizwirkung, die eine bestimmte H-Ionenkonzentration ausübt, geringer oder größer als in der Norm ist. Genaue Kenntnisse darüber, wie weit physiologische Schwankungen der Erregbarkeit des Zentrums möglich sind und wie weit in pathologischen Fällen ohne Zufuhr gewisser Pharmaka die Erregbarkeit Änderungen unterliegt, fehlen bisher völlig. *Hasselbalch* hat zum erstenmal mit Nachdruck darauf hingewiesen, daß die Erregbarkeit des Atemzentrums bei der Untersuchung der Blutreaktion ein nicht zu vernachlässigendes Moment sei, und daß es eine individuelle Konstanz dieser Erregbarkeit nicht gebe, daß aber trotzdem unter normalen Verhältnissen die Erregbarkeit eine weitgehende Konstanz aufweise. Auch *Winterstein* äußert sich dahin, daß für gewöhnlich die Beeinflussung des Zustandes des Atemzentrums durch andere Faktoren als die C_H des Blutes keine Rolle spielen, während unter abnormen Bedingungen eine solche Möglichkeit wohl eine Mitberücksichtigung erfordere.

Zur Prüfung der Erregbarkeit des Atemzentrums sind bisher einzelne Methoden angegeben worden, jedoch sind sie zum Teil nicht geeignet, uns über den Zustand des Atemzentrums einen genauen Aufschluß zu erteilen. Die *Loewy*-[1]) und *Lindhard*sche Methode[2]) setzt ja voraus, daß die Kohlensäure eine spezifische Reizwirkung auf das Atemzentrum habe und nicht die H-Ionenkonzentration des Blutes. Wenn nun auch die Steigerung der CO_2-Spannung mit der der H-Ionenkonzentration meist ziemlich parallel geht, so ist dies durchaus nicht immer der Fall, besonders dann nicht, wenn der Bicarbonatgehalt des Blutes verändert ist [*Porges*[3])]. Nach *Winterstein* ermöglicht dagegen die Kenntnis der Blutreaktion einen Schluß auf die Erregbarkeit des Zentrums, in dem bei saurer Reaktion und normaler Atemgröße die Erregbarkeit des Zentrums herabgesetzt, bei alkalischer gesteigert ist. Auch *Hasselbalch* und *Gammeltoft*[4]) sahen darin einen Weg, die Erregbarkeit des Atemzentrums zu beurteilen.

Trotz dieser Unsicherheit in den Methoden glaubte man doch in einzelnen Fällen eine veränderte Erregbarkeit des Atemzentrums annehmen zu müssen. Nach *Lindhard* z. B. ändert sich die Reizbarkeit des Zentrums umgekehrt wie die O_2-Spannung. Das Zentrum ist also bei guter Sauerstoffversorgung gegen den CO_2- und H-Ionenreiz weniger empfindlich. Weiter beobachtete *Hasselbalch*[5]) eine Erregbarkeitsänderung des Atemzentrums bei Bestrahlung mit ultraviolettem Licht. Das Sinken der CO_2-Spannung während der Bestrahlung bezieht er auf eine erhöhte Erregbarkeit des Atemzentrums.

---

[1]) *Loewy*, Arch. f. d. ges. Physiol. **47**, 601, 1890.
[2]) *Lindhard*, Journ. of Physiol. **42**, 337, 1911.
[3]) *Porges*, diese Zeitschr. **45**, 182, 1913.
[4]) *Hasselbalch* und *Gammeltoft*, ebendaselbst **68**, 206, 1915.
[5]) *Hasselbalch*, ebendaselbst **46**, 403, 1912.

Ähnlich wurde auch von *Hasselbalch* und *Lindhard*[1]) die allmähliche Abnahme der alveolaren CO_2-Spannung bei einem Aufenthalt in großer Höhe erklärt. Durch Untersuchungen von *Haldane*, *Kellas* und *Kennaway*[2]) wurde der Verminderung der CO_2-Spannung bei niedrigem Barometerdruck dann eine andere Deutung als die ursprüngliche gegeben, worauf aber hier nicht näher eingegangen werden soll. *Haggard* und *Henderson*[3]) nehmen aus Mangel einer besseren Erklärungsmöglichkeit bei niedrigem O_2-Druck ein respiratorisches *X* an, das die Erregbarkeit des Zentrums für H-Ionen steigert.

Auch das Sinken der CO_2-Spannung während der Schwangerschaft wurde zunächst von *Hasselbalch* mit einer Steigerung der Erregbarkeit des Atemzentrums erklärt, bei der ein geringerer Reiz genüge, das Zentrum zu erregen. Später fanden dann zwar *Hasselbalch* und *Gammeltoft*, daß die primäre Veränderung im Blut des graviden Organismus eine vermehrte Säureproduktion sei und die Herabsetzung der alveolaren CO_2-Spannung nur einen ausgleichenden Vorgang bildet, durch den die Blutreaktion zur Norm zurückgeführt wird. In einigen Fällen blieb aber die Atmungsregulation unvollständig. Für diese müßte nach wie vor eine gesteigerte Erregbarkeit des Atemzentrums angenommen werden.

Dann ist nach den Untersuchungen von *Endres*[4]) im Schlaf die Atemtätigkeit derartig eingestellt, daß die H-Ionenkonzentration gesteigert ist, die Blutreaktion also saurer als im wachen Organismus. Die Erregbarkeit des Atemzentrums ist im Schlaf herabgesetzt.

Die Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen über die Erregbarkeit des Atemzentrums sind zum Teil infolge der Unzulänglichkeit der verwendeten Methoden noch sehr widersprechend. Jedoch scheint die Erregbarkeit des Zentrums durch Änderung der Sauerstoffspannung, durch ultraviolette Bestrahlung und während der Schwangerschaft bei einzelnen Individuen gewisse Veränderungen zu erfahren, und ebenso bei allen Menschen im Schlafe, ohne daß aber die Ursachen näher geklärt wären.

Betrachten wir die Faktoren, die für die Erregbarkeit einer Zelle ganz allgemein von Bedeutung sein können. Die Erregbarkeit einer Zelle ist von ihrem physikalisch-chemischen Zustand abhängig, vor allem von dem Verhalten ihrer Oberfläche und von Ladungsverhältnissen, also von Grenzflächenerscheinungen an der Zelloberfläche und an der Oberfläche der sie umgebenden Flüssigkeit. Von der Natur dieser Zellflüssigkeit und ihrem Ionengehalt werden die Adsorptionserscheinungen an den Grenzflächen weitgehend bestimmt. Eine überragende Rolle kommt dabei den H- und OH-Ionen zu. Groß ist aber auch die Bedeutung anderer Ionen, Anionen und Kationen, deren Wirkungen auf den Kolloidzustand der Zelle zum Teil gut bekannt sind. Von den Anionen kommen in der lebenden Zelle und der sie umspülenden Flüssigkeit, dem Blut bzw. der Lymphe, Cl, HCO_3, SO_4, H_2PO_4 und HPO_4 vor, von den Kationen Na, K, Ca, Mg, NH_4. Die Konzentration dieser Ionen ist nach Art der Zelle verschieden und auch im Blut

[1]) *Hasselbalch* und *Lindhard*, Skand. Arch. f. Physiol. **25**, 361, 1911.
[2]) *Haldane*, *Kellas* und *Kennaway*, Journ. of Physiol. **54**, 32, 1920.
[3]) *Haggard* und *Y. Henderson*, Journ. of biol. Chem. **43**, 3, 1920.
[4]) *Endres*, diese Zeitschr. **142**, 54, 1923.

wieder verschieden. Für den Ablauf einer normalen Zellfunktion, vor allem für die normale Erregbarkeit der Zelle ist das Vorhandensein, die Konzentration dieser Ionen und das Gleichgewicht derselben untereinander von Bedeutung. *Loeb*[1]) nimmt an, daß zum normalen Ablauf des Lebens Na, K und Ca in bestimmten Verhältnissen erforderlich sind. Das Fehlen eines dieser Ionen kann zu schweren Störungen der Zelltätigkeit führen. Dabei hat Na auf die Zelle eine allgemein erregende Wirkung, Ca eine lähmende und alle Ca-fällenden Salze wieder eine stark erregende Wirkung. Weniger sichergestellt ist der Einfluß der K-Salze auf die Erregbarkeit der Zelle. Es werden teils lähmende, teils auch erregende Eigenschaften des K-Ionen mitgeteilt. Mg hemmt nach *Meltzer* und *Auer*[2]) die Erregbarkeit aller nervösen Elemente. Es erzeugt eine Narkose des zentralen Nervensystems, führt zu Bewußtseinstrübung und Aufhebung aller Reflexe. Injiziert man Kaninchen Mg-Salze, so tritt in erster Linie die Wirkung auf die Atmung hervor. Die Atmung wird langsamer und gleichzeitig flacher, niemals beschleunigt. Bei großen Dosen kommt es zu Atemstillstand, bevor das Herz aufhört zu schlagen (*Meltzer* und *Auer*). Zwischen den Mg- und Ca-Ionen besteht ein auffallender Antagonismus. Die lähmende Wirkung des Mg tritt dann ein, wenn es an Stellen gelangt, die vorher durch Ca-Ionen besetzt waren [*Starkenstein*[3])]. Es soll später noch mehr auf die Theorie der Mg-Wirkung eingegangen werden.

Vor allem sind es also Kationen, die die Erregbarkeit der Zelle beeinflussen. Aber auch dem Phosphation wird eine erregbarkeitssteigernde Wirkung zugeschrieben.

Bei der Bedeutung der verschiedenen Ionen und ihrem Gleichgewicht untereinander für die normale Erregbarkeit der Zelle und vor allem auch der nervösen Elemente, tauchte die Frage auf, inwieweit ein Einfluß dieser Ionen auf die nervösen Elemente des Atemzentrums besteht. Die überragende Rolle für die Erzeugung der einzelnen Atmungsimpulse kommt zweifellos dem H-Ion zu. Die Beeinflussung der Atmung durch Änderung der H-Ionenkonzentration steht so sehr im Vordergrund der Erscheinungen und ist auch für die Atmung von solcher Bedeutung, daß das ganze Interesse ihr zugewendet worden ist. Es ist nun aber wahrscheinlich, daß für den Zustand des Atemzentrums nicht nur H-Ionen, sondern auch andere Ionen maßgebend sind und daß die Ventilationsgröße durch den Reiz all der Ionen bestimmt wird, die auf diesen Zustand von Einfluß sind. Danach könnte die H-Ionenwirkung durch die Gegenwart der übrigen Ionen eine Abschwächung oder Verstärkung erfahren. Es ist nun gleichgültig, ob man sich vorstellt, daß diese Ionen den H-Ionenreiz auf das Zentrum modifizieren, oder daß sie die Empfindlichkeit des Zentrums für den H-Ionenreiz verändern. Bei der Annahme einer relativen Konstanz der Konzentration dieser in Frage kommenden

[1]) *Loeb*, Amer. Journ. of Physiol. 3, 383, 1900; diese Zeitschr. 8, 83, 1906; *Oppenheimer*, Handb. d. Biochem. 2, 104, 1907.
[2]) *Meltzer* und *Auer*, Amer. Journ. of Physiol. 15, 389, 1905/6; 21, 1908.
[3]) *Starkenstein*, Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Pharm. 77, 45, 1914.

Ionen gegenüber den H-Ionen, die ja in ihrer Konzentration einem dauernden Wechsel unterliegen, schien die letztere Auffassung vorgezogen werden zu müssen. Der Gedanke lag nun nahe, daß hier hauptsächlich ein Kationengleichgewicht eine Rolle spiele. An diese Möglichkeit war um so mehr zu denken, als sehr häufig bei Erkrankungen, die mit Störungen im Kationengleichgewicht einhergehen, eine Einstellung der Blutreaktion auf eine abnorme H-Ionenkonzentration gefunden wird, was auf eine Änderung der Erregbarkeit des Atemzentrums zu deuten scheint.

Ich habe nun in Versuchen an Kaninchen den Einfluß verschiedener Kationen auf die Erregbarkeit des Atemzentrums in der Weise geprüft, daß ich durch Injektion eines Salzes die Konzentration eines Kations im Blute erhöhte. Es ist anzunehmen, daß während und nach der Injektion die Konzentration des betreffenden Salzes im Blute vermehrt ist und ebenso die Ionen dieses Salzes, da ein Teil immer auch in dissoziiertem Zustande vorhanden ist. Gleichzeitig wurde in den hier mitgeteilten Versuchen die Atmung registriert. Um aber aus der Atmung einen Schluß auf die Erregbarkeit des Zentrums ziehen zu können, mußte auch der hämatogene Reiz bekannt sein. Es wurde deshalb die H-Ionenkonzentration des Arterienblutes untersucht, zumal da anzunehmen war, daß die Injektion der Salze, abgesehen von einer eventuellen zentralen Wirkung, auch die Säurebasenverhältnisse im Blute beeinflussen konnte.

Methodik.

Die Kaninchen erhielten, um alle sensiblen Eindrücke auszuschalten, eine leichte Urethannarkose. Leider war bei der gewählten Versuchsanordnung diese Narkose nicht zu umgehen, denn es zeigte sich, daß sonst die Tiere auf jede Manipulation, Infusion, Blutentnahme mit erhöhter Atemfrequenz reagierten. Durch das Urethan wird die normale Reizschwelle des Atemzentrums nach oben verschoben, aber bei den kleinen Urethangaben — 0,75 g pro Kilogramm Körpergewicht — doch nur unmerklich. Jedenfalls war die Atmung, CO_2-Spannung und H-Ionenkonzentration eines narkotisierten Tieres von der des gleichen Tieres im unnarkotisierten Zustande nicht oder nur wenig verschieden. Zudem handelte es sich bei diesen Versuchen um eine Verschiebung dieser Reizschwelle, nicht um die Bestimmung ihrer absoluten Höhe. Es werden deshalb die Versuchsergebnisse dadurch nicht beeinflußt. Auch wurde von jedem Tiere die Atmung und Blutzusammensetzung nach eingetretener Urethanwirkung bestimmt, so daß es also nur auf Differenzen gegenüber diesen bekannten Werten ankam.

Nach der Urethaninjektion wurde das Tier in einen völlig luftdicht zu verschließenden Kasten gepackt, dessen Luftraum durch Sand

verringert wurde. Eine Schmalseite dieses Kastens bestand aus einer Gummiplatte mit schlitzförmiger Öffnung, durch die der Kopf und Hals des Tieres hindurchgezogen wurde. Der Gummi legte sich luftdicht um den Hals, ohne daß aber dadurch die Halsgefäße eine Stauung erlitten. Eine Ausdehnung dieses Gummis durch die Atmung wurde durch einen außen angebrachten, mit Plastelin genau angepaßten Holzring verhindert. Im Kastendeckel, der ebenfalls mit Plastelin luftdicht befestigt wurde, befand sich eine Öffnung, durch die ein Schlauch zu einem kleinen Volumschreiber nach Art des *Gad*schen Aeroplethysmographen führte. Der Deckel dieses Volumschreibers, der sich im Kreisbogen um eine horizontale Achse bewegte, war aus sehr leichtem Material, einem dünnen Film, hergestellt und sein Gewicht durch ein Gegengewicht vollkommen ausgeglichen. Die Ausschläge wurden auf einen Kymographen übertragen. Die Eichung geschah in der Weise, daß ein bestimmtes Luftvolumen in den Kasten eingeblasen wurde, und die Ausschläge des Volumschreibers registriert wurden. Diese Vorrichtung gestattete in einfacher Weise die Registrierung der Atemfrequenz und Amplitude und Berechnung des Minutenvolumens und außerdem die Beurteilung der Mittellage. Am Menschen sind bereits von *Haldane* und *Priestley* Versuche mit einem derartigen Körperplethysmographen mitgeteilt worden. Die Versuchsanordnung hat den Vorteil einer großen Einfachheit und kann dadurch, daß der Kopf und Hals des Tieres sich außerhalb des Kastens befinden. weitgehend Verwendung finden.

An dem Halse des Tieres wurden nun die Jugularis und Karotis frei gelegt und in beide Gefäße eine Kanüle eingebunden. Das Blut wurde jedesmal zur Vermeidung der CO_2-Abdunstung unter Paraffin aufgefangen und durch Hinzufügen kleiner Mengen Natriumoxalat ungerinnbar gemacht. Die Lösungen wurden langsam und körperwarm infundiert.

In dem abgenommenen arteriellen Blute wurde der CO_2-Gehalt bestimmt unter Benutzung des *Barcroft*schen Differentialapparates, ferner die CO_2-Bindungskurve bei verschiedener CO_2-Spannung nach der Methode von *Straub* und *Meier*[1]). Durch Eintragung der erhaltenen Werte in ein Koordinatensystem konnte die Größe der arteriellen CO_2-Spannung abgelesen werden. Die H-Ionenkonzentration wurde aus der Größe der freien und gebundenen CO_2 rechnerisch bestimmt[2]). In den Tabellen ist an Stelle der ganzen CO_2-Bindungskurve einfach das CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm Spannung eingetragen. Es

[1]) *H. Straub* und *Kl. Meier*, diese Zeitschr. 89, 156, 1918.

[2]) Es ist zwar diese rechnerische Bestimmung der Blutreaktion mit einigen Fehlerquellen behaftet, trotzdem wurde sie mangels einer besseren Methode hier verwendet.

können so Verschiebungen der Höhenlage der Kurve am besten und raschesten beurteilt werden.

Eine Untersuchung des Kationengehaltes war wegen der kleinen zur Verfügung stehenden Blutmengen nicht möglich. Es wurden jedesmal nur 2 bis 3 ccm Blut entnommen. Die Entnahme größerer Mengen würde allein genügt haben, besonders da wiederholte Entnahmen nötig waren, das Säurebasengleichgewicht und die Atmung zu beeinflussen.

Magnesium.

Es sollen zunächst die Mg-Versuche besprochen werden. $MgCl_2$ wurde in isotonischer (= 0,155 n) und hypertonischer Lösung (= 0,50 n) infundiert. Schon während der Infusion wird die Atmung, wie das *Meltzer* und *Auer* und seither auch andere Autoren beobachtet haben, flacher und zum Teil auch langsamer. Das Minutenvolumen, das sich bei plethysmographischer Messung sehr genau angeben läßt, nimmt stark ab. Dieses Minutenvolumen gibt Aufschluß über die Ventilationsgröße und den Nutzeffekt der Atmung und eignet sich am besten zur Beurteilung einer Atmungsveränderung, während die Frequenz oder die Kurvenamplitude allein ein durchaus ungenügendes Bild geben. Im Versuch 3 nahm sogar die Atemfrequenz zu, während

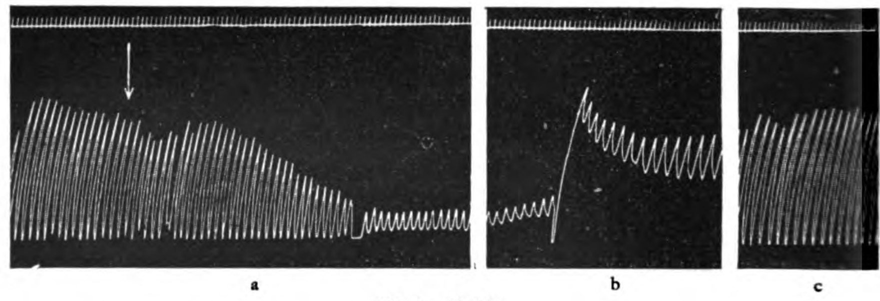


Abb. 1. $MgCl_2$.
a) Der Pfeil gibt den Beginn der Infusion an; b) $3^1/_2$ Minuten nach Beginn der Infusion; c) 5 Minuten nach Beginn der Infusion. Normale Atemgröße wieder erreicht. Zeitschreibung in Sekunden.

durch entsprechende Verflachung der Atmung doch die Ventilationsgröße immer kleiner wurde. War nach einer Infusion die Atemgröße allmählich wieder zur Norm angewachsen, so wurde die Infusion wiederholt mit dem Erfolg, daß die Ventilationskurven noch mehr abnahmen als bei der vorhergehenden Infusion, deshalb wahrscheinlich, weil die Mg-Ionenkonzentration noch nicht wieder auf den normalen Spiegel gesunken war.

Betrachtet man die Verhältnisse im Blute, so ergibt sich in Versuch 1 ein unverändertes CO_2-Bindungsvermögen, auch die CO_2-Spannung und Blutreaktion haben keine Veränderung erfahren. Zu berücksichtigen ist aber hierbei natürlich immer der Zeitpunkt der

Blutentnahme. In Versuch 1 wurde das Blut in dem Augenblick entnommen, als die erste Abnahme der Atemgröße an der Atemschreibung sich bemerkbar machte. Die Ventilationsgröße sank, was zu erwarten war, ohne daß der hämatogene Reiz geringer geworden wäre (s. Abb. 1). Wäre das Blut später abgenommen worden, als die Atmung schon einige Minuten lang unter das normale Maß gesunken war, so hätte sich zweifellos die verminderte CO_2-Abdunstung in der Blutzusammensetzung bemerkbar machen müssen. Dies geschah in Versuch 3. Der enorme Anstieg der CO_2-Spannung im arteriellen Blute und die dadurch bedingte Verschiebung der Blutreaktion nach der sauren Seite ist eine Folge der verminderten CO_2-Abdunstung durch Abnahme der Atemgröße. Beim Übergang der Atmung in den normalen Typus wurde auch wieder mehr Kohlensäure durch die Lunge abgegeben. Wurde nun die Infusion wiederholt, so sank die Blutreaktion bis auf den stark sauren Wert von 6,99. Dabei machte sich noch eine andere Erscheinung bemerkbar, ein Sinken der CO_2-Bindungsfähigkeit des Blutes, das in keinem Zusammenhang stand mit der Änderung der CO_2-Spannung. Es konnte sich hierbei um eine osmotische Beeinflussung handeln. *Odaira*[1]) hatte hypo-, iso-

Tabelle I. $MgCl_2$.

	Zeit	p_H des arter. Blutes	CO_2-Spannung des arteriellen Blutes	CO_2-Kapazität bei 40 mm	Atemfrequenz pro Minute	Atemtiefe ccm	Minutenvolumen ccm
1. Normal	9h05'	7,33	35	46,5	35	14	490 [2])
Infusion von	9 12						
15 ccm 0,155 n	9 13	7,33	35	46,5	35	11	385
	9 14				35	6	210
	9 22				40	11	440
2. Normal	9 51				38	19	722
Infusion von	10 02						
6 ccm	10 03				33	12	396
0,50 n	10 10				38	18	684
+ 5 ccm	10 14				30	2	60
	10 28				32	23	736
3. Normal	10 23	7,23	34,5	37	42	20	840
Infusion von	10 30						
5 ccm	10 33	7,05	60	33,5	40	11	440
0,50 n	10 35				40	15	600
+ 4 ccm	10 37	6,99	57	27	42	9	378
	10 45				50	13	650
+ 5 ccm	10 47				50	2	100
	10 55				56	14	784

[1]) *T. Odaira*, Tohoku Journ. of exper. Med. 4, 523, 1924.

[2]) Die Atmung wurde während des ganzen Versuchs fortlaufend aufgezeichnet. Für die Tabellen wurden die Punkte der stärksten Veränderung herausgegriffen und abgemessen.

und hypertonische Neutralsalzlösungen infundiert und dabei gefunden, daß hypertonische Lösungen die Alkalireserve vermindern. Allerdings wurde in diesen Versuchen das CO_2-Bindungsvermögen ohne Rücksicht auf die CO_2-Spannung untersucht, so daß keine eindeutigen Schlüsse daraus zu ziehen sind. Daß es sich um eine Abwanderung von Alkali aus dem Blute in das Gewebe handelt, ist unwahrscheinlich, eher um eine Verdrängung der Kohlensäure aus ihren Verbindungen in der Weise, daß das $MgCl_2$ zum Teil sich in ein Carbonat umwandelt, um dann als solches ausgeschieden zu werden, wobei Cl an die Stelle des HCO_3 rückt und so als Säure wirkt, ein Vorgang, der bei der $CaCl_2$-Acidose eine Rolle spielt [*Haldane*, *Hill* und *Luck*[1])]. Eine weitere Erklärung wäre die: Setzt Mg, wie z. B. Ca oder die Narkotica, mit denen es eine gewisse Ähnlichkeit hat, die Zellatmung herab, so wird dadurch die Bildung saurer Stoffwechselprodukte im Gewebe gefördert, die dann ins Blut übergehen und dessen CO_2-Bindungsvermögen verringern.

Durch die Infusion von $MgCl_2$ nimmt also die Atemgröße sehr erheblich ab. Die Kohlensäure wird durch diese Abnahme des Atemvolumens mangelhaft aus dem Blute entfernt und staut sich deshalb an, erhöht dadurch die H-Ionenkonzentration, ohne daß durch diesen stärkeren Reiz das Atemzentrum zu vermehrter Tätigkeit angeregt würde. Erst nachdem die H-Ionenkonzentration stark angewachsen ist, und auch die Mg-Konzentration im Blute bereits wieder abgenommen hat, steigt die Ventilationsgröße allmählich an und erreicht ihre ursprüngliche Größe. In diesem Augenblick ist aber die H-Ionenkonzentration und CO_2-Spannung noch größer als vor der Infusion, und das Atemzentrum müßte nun jetzt bei normaler Erregbarkeit mit einer Hyperpnoe reagieren. Beim Übergang in die normale Atemtätigkeit trat aber niemals ein hypernoisches Stadium auf. Für den Grad der Atemveränderungen und die Dauer der Wiederherstellung der normalen Atmung ist die Konzentration der infundierten Lösung und die Infusionsgeschwindigkeit maßgebend.

Wie ist nun diese Mg-Wirkung auf die Atmung zu erklären? *Meltzer* und *Auer* haben als erste die Vermutung ausgesprochen, daß die Mg-Wirkung eine zentrale sei und vor allem auch die Mg-Wirkung auf die Atmung. Dieser Auffassung wurde dann von einer Reihe französischer Autoren widersprochen, nach denen die Mg-Wirkung rein peripher ist. Diese Annahme schien eine Stütze dadurch zu erfahren, daß im Gehirn während der Mg-Narkose keine Anreicherung von Mg stattfindet. Nach *Starkenstein* ist das Wesen der Mg-Narkose aber in einer Störung des Gleichgewichts zwischen Mg- und Ca-Ionen im Nervensystem zu suchen, also weniger in der Vermehrung der Mg-Ionen, und es werden dabei nach seiner Auffassung alle Teile des Nervensystems ihrer Erregbarkeit beraubt, auch die zentralen.

---

[1]) *J. B. Haldane*, *R. Hill* und *J. Luck*, Journ. of Phys. **57**, **301**, **1923**.

Stransky[1]) glaubt, daß für die Mg-Wirkung eine Verschiebung des Verhältnisses $C_{Mg} : C_{Ca}$ im Blut maßgebend sei. Er fand nach der Injektion von Mg-Salzen eine starke Vermehrung des Mg-Gehaltes im Blute bei gleichzeitiger Abnahme des Kalkgehaltes. Die Aufnahme von Mg während der Narkose ist aber nicht nur im Gehirn, sondern auch in den Muskeln sehr gering. *Stransky* nimmt an, daß trotz der negativen Analysen anderer Autoren eine gewisse Menge Mg in das Gehirn eindringe. *Straub*[2]) faßt nun die Mg-Wirkung lediglich als curareartige auf. Zwar wird nach seinen Angaben die Atemmuskulatur am spätesten ergriffen, aber es wäre danach doch auch die Wirkung auf die Atmung peripher bedingt. *Markwalder*[3]), der dieser Frage auf Veranlassung *Straubs* näher nachging, mußte aber eine zentrale Mg-Wirkung anerkennen, wobei er allerdings annimmt, daß das Atemzentrum relativ resistent gegen die Mg-Wirkung ist. Gegenüber den Angaben *Straubs* betont *Mansfeld*[4]) nachdrücklich, daß das Mg ein wahres Narkoticum sei, daß es zu völliger Bewußtlosigkeit und Aufhebung der Schmerzempfindung führt. Er weist auf die Beobachtung *Meltzers* hin, daß geringe Mengen Mg direkt auf das verlängerte Mark gebracht, fast unmittelbar zu einer Verflachung und Verlangsamung der Atmung führen, wie sie gewöhnlich bei der Mg-Wirkung beobachtet wird, und ebenso auf die Möglichkeit, die Mg-Wirkung durch Kombination mit echten Narkotica, z. B. Urethan und Äther zu verstärken. Und auch *Meltzer*[5]) selbst wendet sich gegen die *Straub*sche Auffassung der Mg-Wirkung als einer rein peripheren. Das Mg wirke früher und leichter auf das zentrale Nervensystem als auf das periphere.

Danach ist wohl anzunehmen, daß die beobachtete Wirkung auf die Atmung im wesentlichen zentral bedingt ist, und daß sie auf einer Herabsetzung der Erregbarkeit des Atemzentrums beruht, wofür auch noch die Beobachtung spricht, daß trotz der sehr starken Zunahme der H-Ionenkonzentration und CO_2-Spannung im Blute nach dem scheinbaren Abklingen der Mg-Wirkung auf die Atmung nicht eine enorme Hyperpnoe einsetzte. Wahrscheinlich geht das Atemzentrum nur allmählich in den Zustand normaler Erregbarkeit über. Die mitgeteilten Veränderungen im Blute sind ähnlich denen bei einer Morphiumintoxikation, bei der die CO_2-Spannung und H-Ionenkonzentration durch mangelhafte CO_2-Abdunstung auch sehr hohe Werte erreichen kann, während gleichzeitig die Lungenventilation herabgesetzt ist.

Calcium.

Die intravenöse Infusion von $CaCl_2$ in iso- und hypertonischer Lösung beeinflußte die Atmung in der gleichen Weise wie das $MgCl_2$: die Ventilationsgröße nahm sehr stark ab (s. Abb. 2). Am eindrucksvollsten war die Verringerung der Atemtiefe. Die Atemfrequenz nahm

---

[1]) *E. Stransky*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 78, 122, 1915.
[2]) *W. Straub*, Münch. med. Wochenschr. 25, 1915.
[3]) *I. Markwalder*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 5, 150, 1917.
[4]) *Mansfeld*, Münch. med. Wochenschr. 6, 208, 1915.
[5]) *Meltzer*, Berl. klin. Wochenschr. 11, 261. 1915.

zwar in Versuch 1 und 2 auch deutlich ab, in Versuch 3 aber bei jeder Infusion zu. Die Ventilationsgröße sank trotzdem auch in Versuch 3 sogar bis auf ein Siebentel des Normalwertes. Die Atemfrequenz verminderte sich in Versuch 2 von normal 50 bis auf den enorm niedrigen Wert von 8 Atemzügen in der Minute, und einzelne Atempausen dauerten bis zu 12 Sekunden. Trotzdem wurde ein regelmäßiger Atemrhythmus aufrecht erhalten. In allen drei Versuchen erreichte die Atemgröße

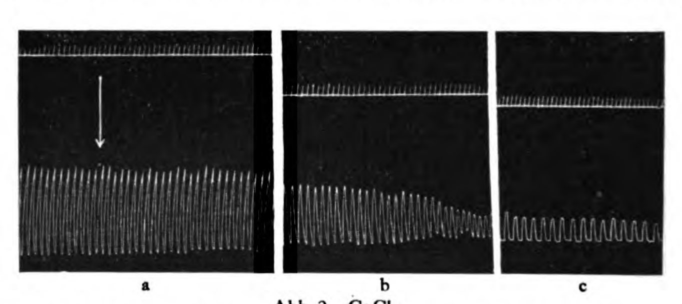


Abb. 2. $CaCl_2$.
a) Der Pfeil gibt den Beginn der Infusion an; b) 2 Minuten nach Beginn der Infusion; c) 4 Minuten nach Beginn der Infusion. Zeitschreibung in Sekunden.

allmählich wieder die ursprüngliche Höhe, ohne daß ein hyperpnoisches Stadium gefolgt wäre. Die Tiere blieben während des Versuchs vollkommen ruhig, die Atmung war nicht schnarchend wie nach Vagotomie. Dagegen zeigten einige Atemkurven ein von normalen verschiedenes Bild. Die inspiratorische Phase war stark verlängert, die Exspiration kam verzögert in Gang. Es soll auf diese Erscheinung noch eingegangen werden.

Auch im Verhalten des CO_2-Bindungsvermögens war die gleiche Erscheinung wie beim $MgCl_2$ zu beobachten. Es blieb in einem Versuch unverändert und nahm in zwei Versuchen sehr stark ab. Wahrscheinlich ist auch diese Abnahme als Säurewirkung aufzufassen und nicht als die Folge eines osmotischen Vorganges oder einer Alkaliwanderung aus dem Blute in das Gewebe, wofür keine Veranlassung bestand. Entweder handelt es sich hier um die Bildung von Blutstoffwechselprodukten infolge der herabgesetzten Zelloxydation (*Loeb*, *Warburg*) oder um eine HCl-Wirkung infolge der Bildung von Calciumcarbonat, das durch den Darm ausgeschieden wird.

Die arterielle CO_2-Spannung steigt infolge der verflachten und verlangsamten Atmung an und verschiebt die Blutreaktion auf stark saure Werte, wozu auch die Säurewirkung, die zur Verminderung des CO_2-Bindungsvermögens führt, beiträgt (s. Tabelle II).

Die Herabsetzung der Lungenventilation trotz der Zunahme der H-Ionenkonzentration und CO_2-Spannung bei Infusion von $CaCl_2$

kann in der Weise gedeutet werden, daß Ca die Erregbarkeit des Atemzentrums verringert.

Tabelle II. $CaCl_2$.

	Zeit	p_H des arter. Blutes	CO_2-Spannung des arteriellen Blutes	CO_2-Kapazität bei 40 mm	Atemfrequenz pro Minute	Atemtiefe ccm	Minutenvolumen ccm
1. Normal	10h15′	7,23	44	42	35	15	525
Infusion von	10 21						
10 ccm 0,5 n	10 22				40	6	240
Lösung	10 24	7,14	57	42	40	4	160
+ 3 ccm	10 25	7,14	56,5	42	18	7	126
	10 23				20	15	300
2. Normal	9 55	7,27	41	54	50	15	750
Infusion von	10 00						
8 ccm 0,5 n	10 04				8	12	96
Lösung	10 05	7,03	59	35	8	12	96
	10 20				20	13	260
3. Normal	9 35	7,30	37	45	35	20	700
Infusion von	9 41						
10 ccm 0,25 n	9 44	7,25	38	40	65	6	390
Lösung	9 47				42	17	714
+ 6 ccm	9 51				60	2	120
	9 55				45	7	315
+ 6 ccm	9 58	7,20	39	35,5	55	2	110

Einige andere Beobachtungen scheinen auch für eine solche zentrale Ca-Wirkung zu sprechen, z. B. die Beeinflussung der Magnesiumnarkose durch Ca (*Starkenstein*), oder die antagonistische Wirkung von intralumbalen Ca-Injektionen bei der NaCl- oder KCl-Hyperpnoe [*Collip*[1])]. *Haffner*[2]) untersuchte die Wirkung des Ca auf die Atmung und konnte einen direkt lähmenden Einfluß auf das Atemzentrum nachweisen, der den Tod des Tieres durch Atemstillstand herbeiführen kann. *Jansen*[3]) hat Ca-Salze Menschen intravenös injiziert und jedesmal eine prompte Wirkung auf die Atmung beobachtet. „Ausnahmlos trat eine Abnahme der Atemfrequenz ein. Der Abfall betrug ein Drittel der normalen Frequenzzahl, um dann nach einigen Minuten wieder zur Norm zurückzukehren.“ Er beobachtete niemals eine Zunahme der Atemfrequenz. Die Angaben einzelner anderer Autoren über eine Atembeschleunigung durch Ca-Injektionen (z. B. *Odaira*) stellen keinen Widerspruch dar, denn es kann die Atemfrequenz wie in Versuch 3 wohl zunehmen und die Ventilationsgröße trotzdem abnehmen. Ferner glaubt *Haffner*, daß die von ihm beobachtete Hyperpnoe zum Teil durch periphere Ca-Wirkung auf das Herz und den Kreislauf bedingt sein kann.

Wie weit sind überhaupt periphere Einflüsse an dem Auftreten der beobachteten Ca-Wirkung beteiligt und können sie die Veränderungen der Atmung erklären? Dies ist um so mehr zu überlegen, da das Calcium eine wesentliche periphere Wirkung besitzt.

[1]) *Collip*, Amer. Journ. of Physiol. **52**, 483, 1920.
[2]) *Haffner*, Zentralbl. f. d. ges. innere Med. 1913, S. 583.
[3]) *Jansen*, Klin. Wochenschr. **3**, 719, 1924.

Ca wirkt lähmend auf die peripheren Nerven, während die Ca-fällenden Salze ihre Erregbarkeit sehr stark steigern. Die Atemtätigkeit hängt aber, wie anfangs erwähnt wurde, nicht allein von der chemischen Regulation durch das Zentrum ab, sondern auch von nervösen Einflüssen. Es können dem Atemzentrum erregende und hemmende Impulse von höheren Zentren oder auf reflektorischem Wege zugehen. Die Atmung kann so durch psychische Faktoren beeinflußt werden oder durch Erregung sensibler Nervenendigungen, und es kann dabei zu reflektorischem Atemstillstand kommen. Weiter sind für die Atmung von Bedeutung die Lungenäste des Vagus und vielleicht auch die des Sympathicus. Nach Durchschneidung der beiden Vagi oder noch besser nach reizloser Ausschaltung durch Unterkühlung [*Gad*[1])] wird die Atmung langsamer und angestrengter, die einzelnen Atemzüge tiefer und von ziehendem Charakter. Dabei wird nach *Boruttau*[2]) die Mittellage des Thorax stark im exspiratorischen Sinne verschoben infolge des verstärkten Tonus der Inspirationsmuskeln. Der veränderte Atemtypus nach Vagusdurchschneidung wurde auf Grund der Versuche von *Hering* und *Breuer*[3]) auf den Ausfall der inspirationshemmenden Fasern bezogen, deren Erregung durch den Ausdehnungszustand der Lunge geschieht. *Hering* und *Breuer* nahmen an, daß die Inspiration bei normaler Atmung reflektorisch durch Vermittlung der Vagi unterbrochen wird, und daß während der Exspiration wieder reflektorisch eine Inspiration erzeugt wird. Nach Versuchen von *Legallois*[4]) und neueren Arbeiten von *Straub*[5]) tritt die durch Vaguskühlung ausgelöste Atemform auch dann auf, wenn durch Tracheotomie und Einlegung einer Trachealkanüle Kehlkopfeinflüsse ausgeschaltet werden. Andererseits zeigten *Boothby* und *Shamoff*[6]), daß bei sorgfältiger Trennung der Lungenvagi vom Rekurrens die Tiere nach Vagusdurchschneidung die normale Atemkontrolle wiedergewinnen können, und *Schaefer*[7]) bezieht die verlangsamte Atmung nach Vagusdurchschneidung auf den durch die Larynxlähmung erzeugten Widerstand. Wird aber nach *Davies*, *Haldane* und *Priestley*[8]) gegen einen Widerstand geatmet, so wird die Atmung langsamer und gleichzeitig tiefer, dagegen kann sie bei sehr großem und länger fortgesetztem Widerstand flacher und frequenter werden. Ist dabei die Lungenlüftung nicht ausgiebig genug, so folgt mit dem Aufhören des Widerstandes ein hyperpnoisches Stadium.

Es war nun daran zu denken, daß das Calcium eine Wirkung auf den Vagus ausübte und dadurch die Atmung beeinflußt wurde. Versuche mit Ausschaltung des Vagus durch Unterkühlung lieferten dafür aber keinen Anhaltspunkt. Es wurden zu den Versuchen die Vagi auf Thermoden gelegt, durch die Eiswasser hindurchgeleitet wurde. Nach Vagusausschaltung wurde die Atmung, wie dies bekannt ist, langsamer und tiefer. Das Minutenvolumen blieb aber unverändert.

---

[1]) *Gad*, Arch. f. Physiol. 1880.
[2]) *Boruttau*, Nagels Handb. d. Physiol. **1**, 43, 1909.
[3]) *Hering* u. *Breuer*, Sitzungsber. d. k. k. Ak. d. Wiss. Wien **57**, 909, 1868.
[4]) Zitiert nach *Boruttau*.
[5]) *H. Straub*, unveröffentlichte Versuche.
[6]) *Boothby* und *Shamoff*, Amer. Journ. of Phys. **37**, 418, 1915.
[7]) *Schaefer*, Anaterly Journ. of exper. Phys. **12**, 231, 1919.
[8]) *Davies*, *Haldane* und *Kennaway*, Journ. of Phys. **53**, 60, 1919.

Nach Versuchen von *Straub*[1]) steigt die alveolare CO_2-Spannung nach Vagusausschaltung nicht an. Der Nutzeffekt der Atmung bleibt der gleiche. Ca-Infusion erzeugte nun ebenso wie vor der Vagusausschaltung eine Verflachung und Verlangsamung der Atmung, niemals eine Zunahme der Atemfrequenz. Die Tiere konnten sich aber dem veränderten Atemtypus viel schlechter anpassen. Bei Verwendung hypertonischer $CaCl_2$-Lösung trat in kurzer Zeit der Tod durch Atemlähmung ein. Es war dabei ganz gleichgültig, ob die Ca-Infusion vor oder nach der Vagusausschaltung begonnen wurde. Bei Wiedereinschaltung des Vagus stieg die Atemfrequenz wieder, blieb aber infolge der Ca-Wirkung doch beträchtlich hinter der normalen Frequenz zurück (s. Tabelle III).

Tabelle III. $CaCl_2$ bei Vagusausschaltung.

	Zeit	Atemfrequenz pro Minute	Atemtiefe ccm	Minutenvolumen ccm
1. Normal mit intaktem Vagus . .	9h 00′	50	25	1250
Nach Vagusausschaltung	9 02	35	35	1225
Infusion von 20 ccm 0,155 n Lösung	9 03			
Vagus ausgeschaltet	9 05	21	35	735
Vagus eingeschaltet	9 05	27	35	945
2. Normal mit intaktem Vagus . .	9 45	26	16	416
Nach Vagusausschaltung	9 50	17	26	442
Infusion von 15 ccm 0,155 n Lösung	9 51			
Vagus ausgeschaltet	9 53	25	8	200
	9 57	20	7	140
3. Normal nach Vagusausschaltung	11 50	15	20	300
Infusion von 10 ccm 0,5 n Lösung	11 56	15	12	180
	12 02	15	6	90
4. Normal nach Vagusausschaltung	10 22	20	27	540
Mit intaktem Vagus	10 28	24	19	456
Inf. v. 10 ccm 0,1 n Lösung	10 30			
Vagus ausgeschaltet	10 31	14	11	154
	10 34	8	6	48

Die Frage der Vaguswirkung mußte um so mehr erwogen werden, als die Form der Ca-Atemkurven eine Veränderung aufwies, wie sie in den Versuchen sonst nur bei Vagusausschaltung zu beobachten war (s. Abb. 3), und die auf periphere Einflüsse hinzuweisen schien. Es soll deshalb ausführlicher auf diese Frage eingegangen werden. Bei Vagusausschaltung ist die Inspiration verlängert infolge des verstärkten Tonus der Inspirationsmuskeln, und sie erfolgt in manchen Fällen absatzweise, was sich in der Kurve in Form einer Zacke im inspiratorischen Schenkel äußert. Es könnte dies unter Zugrundelegung der

[1]) *Straub*, unveröffentlichte Versuche.

*Schäfer*schen Theorie die Begleiterscheinung einer Widerstandsatmung sein. Die Versuche von *Legallois* und *Straub* an trachotomierten Tieren sprechen aber gegen die Annahme, daß es sich hier um einen Widerstand in den oberen Luftwegen handelt.

Auch bei den Ca-Kurven wies nun der inspiratorische Kurvenanteil diese Veränderungen auf. Die Vagusausschaltung hatte keinen Einfluß auf den Kurventypus. Es wäre daran zu denken, daß unter der Ca-Wirkung ein Widerstand in den tieferen Luftwegen infolge eines Bronchialkrampfes entsteht. Nach *Brodie* und *Dixon*[1]) verlaufen aber die bronchokonstriktorischen Fasern im Vagus. Zudem müßte,

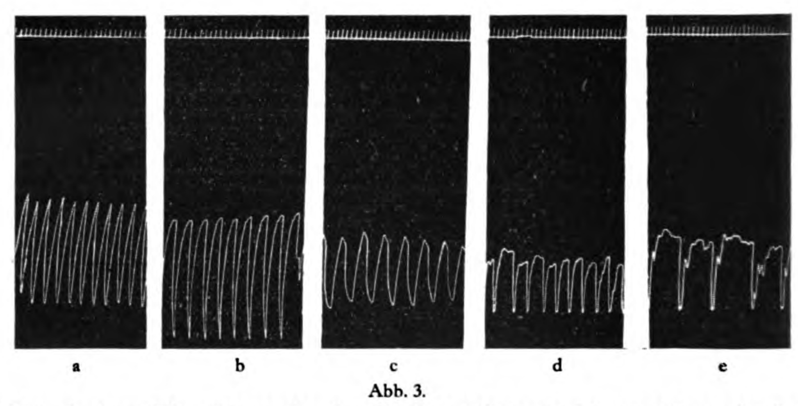


Abb. 3.

a) Normale Atemgröße; b) Kurve desselben Tieres nach Vagusausschaltung; c) Kurve desselben Tieres nach Vagusausschaltung und $CaCl_2$-Infusion; d) Kurve eines anderen Tieres nach $CaCl_2$-Infusion mit intakten Vagi; e) andere Kurve nach $CaCl_2$-Infusion. Zeitschreibung in Sekunden.

wenn die gesamte beobachtete Atemveränderung nur peripher bedingt wäre, nach dem Abklingen der Ca-Wirkung infolge der Anhäufung von Atemreizen eine Hyperpnoe einsetzen. Schon dieses Ausbleiben der Hyperpnoe und der allmähliche Übergang in die normale Atemform weisen auf zentrale Wirkungen hin. Ferner entspricht die Ca-Wirkung gewöhnlich im Prinzip der des Sympathicus. Nach der bisherigen Ansicht verlaufen aber im Sympathicus nur bronchodilatatorische Fasern. [Die Angaben *Kümmels*[2]) über den günstigen Erfolg einer Sympathektomie beim Asthma bronchiale können hier nicht verwendet werden, da es sich dabei nicht um reine Versuchsbedingungen handelt.] Auch danach ist eine durch Calcium erzeugte Bronchokonstriktion unwahrscheinlich. Außerdem wird Ca therapeutisch mit gutem Erfolg bei Bronchialkrämpfen verwendet. Der Einfluß des Ca auf die glatte Muskulatur ist im allgemeinen ein lähmender. Auch diese

---

[1]) *Brodie* und *Dixon*, Journ. of Physiol. **29**.
[2]) *H. Kümmel*, Klin. Wochenschr. **2**, 1825, 1923.

Beobachtung würde gegen die Erzeugung eines Bronchialmuskelkrampfes sprechen. Überdies haben alle Tiere vor dem Versuch Urethan erhalten, das einen lähmenden Einfluß auf die Bronchialmuskulatur hat. Es sprechen also sehr viele Beobachtungen gegen die Annahme, daß hier unter der Ca-Wirkung ein Bronchialkrampf aufgetreten ist, wenngleich die Atmungskurven auf einen derartigen peripheren Einfluß hinzuweisen scheinen.

Könnte die verlängerte Inspiration auf einer Tonussteigerung der Inspirationsmuskulatur beruhen? *Haffner* beobachtete bei seinen Versuchstieren, daß die Atmung unter der Ca-Wirkung zum Teil einen krampfhaften Charakter erhielt. Nun besteht aber die Wirkung des Calciums auf die Skelettmuskulatur in einer Verminderung des Tonus, während Ca-Entionisierung den Muskeltonus steigert. Die Veränderung der Atemkurven kann danach auch nicht auf eine periphere Wirkung auf die Atemmuskeln hinweisen. Es kann also unter Heranziehung der bisherigen Beobachtungen über die Ca-Wirkung keine befriedigende Erklärung der eigentümlichen Kurvenform gegeben werden. Daß es sich aber bei der Ca-Wirkung nicht etwa bloß um periphere Wirkungen handelt, sondern auch um zentrale auf das Atemzentrum, wurde zum Teil schon begründet. Vielleicht wäre noch darauf hinzuweisen, daß die Ca-Kurven ganz gleichartig waren wie die Magnesiumkurven, nur mit dem Unterschied, daß in einigen Kurven die besprochenen Zacken auftraten.

Es ist anzunehmen, daß die Verringerung des Atemvolumens durch Ca zentral bedingt war, und daß daneben aber auch periphere Wirkungen auftraten, die die Atemkurven in der besprochenen Weise veränderten.

Es ist dann noch auf die Möglichkeit einer indirekten Beeinflussung der Atmung durch Calcium auf dem Umwege über eine Veränderung der Funktion anderer Organe einzugehen. Calcium verlangsamt den Herzschlag. Durch Verlangsamung der Zirkulation kann es infolge einer schlechteren O_2-Versorgung zur Bildung saurer Stoffwechselprodukte in den Geweben kommen, die auch in der Medulla örtlich entstehen und eine Erregung des Atemzentrums erzeugen, bevor noch der Blutreiz sie herbeiführt. Es müßte danach eher eine Hyperpnoe entstehen, nicht die tatsächlich beobachtete Verminderung der Ventilationsgröße. Auch die Ca-Wirkung auf die Körpertemperatur kann die Atemveränderung nicht erklären. Durch Herabsetzung der Temperatur mag die Atmung vielleicht etwas verringert werden, aber doch nicht in dem beobachteten Maße. Es bleibt also zur Erklärung der Verlangsamung und Verflachung der Atmung durch Ca nur die zentral lähmende Wirkung.

Es wurde nun das Problem der Ca-Wirkung von einer anderen Seite angegriffen und der Einfluß der **Ca-fällenden Salze** untersucht. Eine Verminderung der Ca-Ionenkonzentration durch Zufuhr Ca-fällender Substanzen, z. B. Natriumoxalat oder Oxalsäure, hat den entgegengesetzten Einfluß wie die Ca-Zufuhr. Bei der intravenösen Infusion einer isotonischen Lösung von *Natriumoxalat* nimmt die Atemfrequenz und Atemtiefe erheblich zu (s. Abb. 4), das Minuten-

volumen steigt auf das Zwei- bis Dreifache, das CO_2-Bindungsvermögen nimmt dabei etwas ab. Infolge der stärkeren Ventilierung sinkt die CO_2-Spannung im arteriellen Blute und die Blutreaktion wird nach der alkalischen Seite verschoben, mehr oder weniger, je nachdem die Abnahme des CO_2-Bindungsvermögens eine größere oder geringere ist. Die Verminderung der CO_2-Bindungsfähigkeit ist wahrscheinlich eine Säurewirkung. Die Blutreaktion erklärt die Atmungsveränderung nicht. In zwei Fällen nahm das Minutenvolumen trotz der alkalischen Reaktion erheblich zu, was nur durch eine Erhöhung der zentralen Erregbarkeit zu erklären ist.

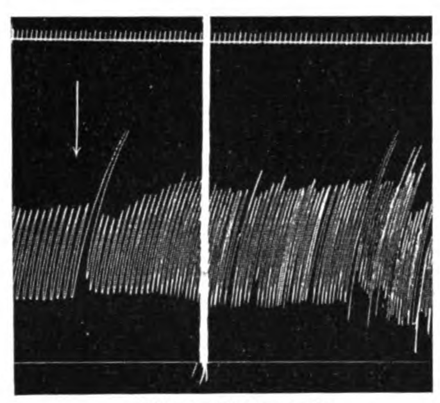


Abb. 4. Natriumoxalat. Der Pfeil gibt den Beginn der Infusion an. Zeitschreibung in Sekunden.

Die Wirkung einer *Oxalsäureinfusion* unterschied sich in nichts von der der Oxalatinfusion. Atemfrequenz, Tiefe und Minutenvolumen nahmen zu, aber durchaus nicht mehr als bei dem Oxalat, auch das CO_2-Bindungsvermögen sank nicht in stärkerem Maße. Die Blutreaktion war ziemlich unverändert geblieben. Die Oxalsäurewirkung auf die Atmung ist demnach im wesentlichen die der Ca-Entionisierung und nicht mehr eine Säurewirkung wie die des Oxalats.

Bei beiden äußert sich eine Säurewirkung nur auf das CO_2-Bindungsvermögen. Selbstverständlich wäre daran zu denken, daß durch die Säurewirkung CO_2 frei gemacht wird, und daß diese zunächst die Hyperpnoe auslöst und die Abnahme der CO_2-Spannung nur einen regulatorischen Vorgang darstellt. Dagegen spricht aber, daß mit dem Erreichen der normalen oder alkalischen Blutreaktion die Hyperpnoe keineswegs aufhörte, sondern vielmehr erst ihren Höhepunkt erreichte, und daß ein Tier (Versuch 2) trotz alkalischer Blutreaktion und niederer CO_2-Spannung dyspnoisch zugrunde ging.

Infundiert man zuerst Natriumoxalat oder Oxalsäure und nach Abklingen der stärksten Hyperpnoe $CaCl_2$, so kommt keine Ca-Wirkung zustande. Wartet man dagegen längere Zeit, bis die Oxalatwirkung vollkommen beseitigt ist und wiederholt dann die $CaCl_2$-Infusion, so tritt die gewöhnliche Abnahme der Atemgröße durch Ca auf. Ebenso bleibt die Ca-Wirkung aus bei *vorheriger Infusion von* Na_2CO_3 *oder* $NaHCO_3$. In beiden Fällen war die Blutreaktion sehr stark alkalisch geworden. Bei der Na_2CO_3-Alkalose bleibt die CO_2-Spannung des Blutes unverändert, ebenso die Atemgröße, während bei der $NaHCO_3$-

Tabelle IV.

	Zeit	p_H des arter. Blutes	CO_2-Spannung des arteriellen Blutes	CO_2-Kapazität bei 40 mm	Atemfrequenz pro Minute	Atemtiefe ccm	Minutenvolumen ccm
			Natriumoxalat.				
1. Normal	10h 11′	7,33	35	46,5	35	18	630
Infusion von	10 20						
5 ccm 0,155 n	10 20				48	20	960
Lösung	10 21				50	20	1000
	10 22	7,30	29,5	39,5	60	20	1200
2. Normal	10 45	7,25	44,5	43,5	40	20	800
Infusion von	10 54				63	30	1800
7 ccm 0,155 n	10 55				85	32	2720
Lösung	10 56	7,27	31	38,5	80	45	3600
3. Normal	10 15	7,33	31,5	42	53	16	848
Infusion von	10 23						
11 ccm 0,1 n	10 25	7,35	29,5	42	60	16	960
Lösung							
			Oxalsäure.				
4. Normal	11 15	7,30	37	45	35	20	700
Infusion von	11 54						
15 ccm 0,1 n	11 55				38	23	874
Lösung	11 56	7,29	30,5	38	45	29	1305
	12 07				37	22	814

Alkalose die CO_2-Spannung erhöht und die Atmung beschleunigt ist. Auf beide Erscheinungen soll in einer anderen Mitteilung näher eingegangen werden. Die geringe Abnahme des Atemvolumens nach einer Ca-Infusion bei der $NaHCO_3$-Alkalose ist nicht als Ca-Wirkung aufzufassen, denn sie tritt nicht sofort im Anschluß oder während der Infusion auf, sondern ist vielmehr auf das allmähliche Abklingen der Bicarbonathyperpnoe zu beziehen. Wiederholt man nach einiger Zeit, wenn keine $NaHCO_3$-Wirkung mehr nachweisbar ist, also nach Wiederherstellung normaler Blutreaktion, die Ca-Infusion, so macht sich die Ca-Wirkung wieder deutlich bemerkbar.

Das Ausbleiben der Ca-Wirkung beruht in den beiden letzten Fällen auf der Alkalose und erhöhten Bicarbonatkonzentration, durch die die Ionisation des Blutkalkes zurückgedrängt wird.

Nach *Rona* und *Takahashi*[1]) hängt die Menge der Ca-Ionen ab von dem Verhältnis der Bicarbonat- und H-Ionenkonzentration. *Behrendt*[2]) gibt an, daß bei einer Acidose die Ca-Ionenkonzentration gesteigert, bei einer Alkalose vermindert ist. Erhöhung des Bicarbonatgehalts im Blute begünstigt die Ca-Entionisierung (*Behrendt*). *Haldane*[3]) fand nach Bicarbonatzufuhr die Ca-Konzentration im Blute erheblich vermindert. Das Ausbleiben der Ca-Wirkung bei erhöhtem Bicarbonatgehalt und alkalischer

[1]) *Rona* und *Takahashi*, diese Zeitschr. **49**, 370, 1913.
[2]) *H. Behrendt*, ebendaselbst **144**, 72, 1924; **146**, 318, 1924.
[3]) *J. B. S. Haldane*, Lancet **206**, 527, 1924.

Blutreaktion hat also die gleiche Ursache wie bei vorhergehender Oxalatzufuhr: nämlich die Verminderung der Ca-Ionen. Erst wenn größere Ca-Mengen zugeführt werden, oder wenn durch die Ausscheidung des Bicarbonats die Bicarbonatkonzentration im Blute geringer und die Blutreaktion wieder zur Norm zurückgekehrt ist, und auch die Dissoziationsverhältnisse des Blutkalkes wieder normal geworden sind, tritt auch bei der Zufuhr kleiner Ca-Mengen eine sofortige Ca-Wirkung auf die Atmung ein.

Tabelle V. $CaCl_2$.

	Zeit	p_H des arter. Blutes	CO_2-Spannung des arteriellen Blutes	CO_2-Kapazität bei 40 mm	Atemfrequenz pro Minute	Atemtiefe ccm	Minutenvolumen ccm
1. Nach Oxals.	10h 21'	7,30	36	44	40	15	600
+ 5 ccm 0,1 n $CaCl_2$	10 23	7,30	36	44	38	16	608
2. Nach Na-Oxalat	10 39	7,35	29,5	42	60	15	900
+ 20 ccm 0,155 n	10 41	7,33	30	41	55	15	825
$CaCl_2$	10 43				45	20	900
3. $NaHCO_3$-Inf.	10 25						
	10 29	7,56	35	78	65	31	2015
	10 30				70	26	1820
	10 32				62	24	1488
+ 10 ccm 0,55 n	10 34	7,49	34,5	67	75	18	1350
$CaCl_2$	10 40				45	16	720
+ 3 ccm $CaCl_2$	10 47				52	8	416
	10 55				45	12	540
4. Na_2CO_3-Inf.	10 20						
	10 24	7,50	32	63	58	15	870
+ 8 ccm 0,55 n	10 25						
$CaCl_2$	10 27	7,31	38	46	50	16	800

Kalium und Natrium.

Üben Ca und Mg eine lähmende Wirkung auf das Atemzentrum aus, so steigern K-Ionen seine Erregbarkeit. Zufuhr von KCl durch intravenöse Infusion ruft jedesmal sofort eine beschleunigte Atmung mit wachsender Atemtiefe und somit bedeutend erhöhtem Atemvolumen hervor. Die CO_2-Bindungsfähigkeit des Blutes bleibt durch die Infusionen ganz unbeeinflußt. Die CO_2-Spannung des arteriellen Blutes sinkt um so mehr, je länger der zentral ausgelöste hyperpnoische Zustand dauert. Die Blutreaktion wird alkalisch. Wir haben eine vermehrte Atemtätigkeit trotz geringerem Ionenreiz. Allmählich klingt die Hyperpnoe ab und geht ebenso allmählich in die normale Atmung über. Wiederholt man die Infusion, so wird die Ventilationssteigerung noch erheblicher, außerdem genügen kleinere Mengen, sie zu erzeugen, und es dauert längere Zeit, bis die Atmung wieder die ursprüngliche Größe erreicht. Dies beruht wieder darauf, daß die K-Ionen im Blute trotz des Abklingens der Atemveränderungen noch

nicht auf den normalen Spiegel gesunken waren. Auch die K-Wirkung auf die Atmung läßt sich durch periphere Einflüsse nicht erklären (s. Tabelle VI, Abb. 5).

Weniger eindeutig sind die Verhältnisse bei der Infusion von NaCl. In drei Versuchen, von denen einer mitgeteilt ist, hatte die langsame Infusion einer körperwarmen isotonischen NaCl-Lösung keinen Einfluß auf die Atmung. In einem vierten Versuch nahm die Atemfrequenz zu, dabei ist aber zu erwähnen, daß das Tier während dieser Infusion

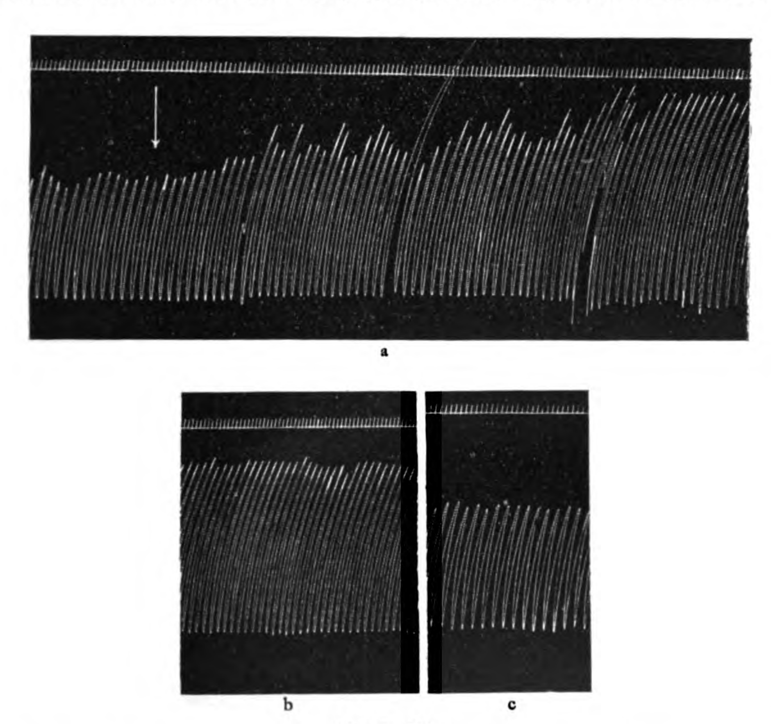


Abb. 5. KCl.
a) Der Pfeil gibt den Beginn der Infusion an; b) 5 Minuten nach Beginn der Infusion; c) 12 Minuten nach Beginn der Infusion. Wieder normale Atemgröße. Zeitschreibung in Sekunden.

unruhig war, so daß die Atmungssteigerung auch darauf zurückgeführt werden konnte. Wurde eine hypertonische Lösung infundiert, so stieg jedesmal die Atemfrequenz und Atemtiefe deutlich und trotzdem auch die CO_2-Spannung, während die CO_2-Bindungsfähigkeit des Blutes abnahm. Es wurde also durch eine Säurewirkung Kohlensäure aus den Bicarbonatverbindungen verdrängt und dadurch die freie CO_2 im Blute vermehrt und die gebundene vermindert, eine Erscheinung, wie sie in stärkerem Maße z. B. bei der Infusion von HCl auftritt. Die Blutreaktion wurde saurer. Die stärkere Ventilation bei der NaCl-

Infusion kann sehr wohl nur auf dieser Steigerung der CO_2-Spannung und H-Ionenkonzentration beruhen. Ein Schluß auf eine zentrale Wirkung kann nach diesen Versuchen nicht gezogen werden.

Tabelle VI. KCl.

	Zeit	p_H des arter. Blutes	CO_2-Spannung des arteriellen Blutes	CO_2-Kapazität bei 40 mm	Atemfrequenz pro Minute	Atemtiefe ccm	Minutenvolumen ccm
1. Normal	9h 30'	7,32	30	40,5	30	22	660
Infusion von	9 38	7,32	28,5	40,5	35	36	1260
6 ccm 0,155 n	9 44				35	26	910
Lösung							
+ 3 ccm	9 50						
	9 52	7,36	26,5	40,5	38	33	1254
	10 00	7,41	21,5	40,5	35	28	980
2. Normal	10 25	7,38	29,5	48	48	18	864
Infusion von	10 30						
4 ccm 0,155 n	10 33				45	23	1035
Lösung	10 40				45	19	855
+ 5 ccm	10 43						
	10 45	7,38	29,5	48	48	22	1056
	10 52				48	19	912
+ 3,5 ccm	11 00						
	11 01	7,40	26,5	48	57	27	1539
	11 10	7,41	27	48	55	23	1265

Ferner beeinflußt NaCl die Körpertemperatur. Es kann zur Entstehung des sogenannten Salzfiebers kommen. Die Ventilationsgröße nimmt aber mit der Temperatur zu. Sie konnte zwar hier nicht gemessen werden, es ist jedoch wohl möglich, daß die Atmung auch dadurch beeinflußt wurde, obwohl es bei der bestehenden Blutveränderung einer weiteren Erklärung der Hyperpnoe nicht mehr bedürfte. Es wäre hier kurz zu erwägen, ob das Salzfieber, das weitgehend von dem Ionengleichgewicht abhängt, vor allem von dem Antagonismus Na : Ca, nicht auch durch zentrale Ionenwirkung auf die vegetativen Zentren im Zwischenhirn erzeugt wird.

Es ist bereits von anderen Autoren über den Einfluß intravenöser NaCl-Lösung auf das Säurebasengleichgewicht des Blutes berichtet worden. Die Ergebnisse sind aber mit den hier erhaltenen nicht vergleichbar. *Freund*[1]) hat die NaCl-Wirkung auf die Alkalireserve des Blutes und *Odaira*[2]) auf die Größe des Kohlensäuregehalts im Blutplasma nach der Methode von *van Slyke* und *Cullen* untersucht, also ohne Berücksichtigung der CO_2-Spannung. *Collip*[3]) beobachtete nach einer intralumbalen Injektion einer hypertonischen NaCl-Lösung eine Atembeschleunigung. Aber auch hier brauchte es sich nicht um eine zentrale Na-Wirkung gehandelt zu haben,

---

[1]) *Freund*, Naturhistorisch-medizinischer Verein, Heidelberg 1924.
[2]) *T. Odaira*, Tohoku Journ. of exper. Med. 4, 523, 1924.
[3]) *J. B. Collip*, Amer. Journ. of Physiol. 52, 483, 1920.

wie er annimmt, es könnten osmotische Vorgänge oder Beeinflussungen des Säure-Basengleichgewichtes wie im Blute die Ursache der zentralen Erregung gewesen sein. Jedenfalls wurden sie nicht ausgeschlossen.

Es muß also unentschieden bleiben, ob dem Na eine zentrale Wirkung auf das Atemzentrum zukommt, obwohl nach dem Einfluß der übrigen Kationen eine solche zu erwarten gewesen wäre (siehe Tabelle VII). Das wesentliche Ergebnis dieser Versuche ist vielmehr, daß durch intravenöse Infusion hypertonischer neutraler NaCl-Lösungen eine Verschiebung des Säure-Basengleichgewichtes im Blute hervorgerufen wird.

Tabelle VII. NaCl.

	Zeit	p_H des arter. Blutes	CO_2-Spannung des arteriellen Blutes	CO_2-Kapazität bei 40 mm	Atemfrequenz pro Minute	Atemtiefe ccm	Minutenvolumen ccm
1. Normal	9h 30′	7,27	38	42	42	13	546
Inf. v. 10 ccm	9 36						
0,9proz. NaCl	9 39	7,25	38	40,5	40	14	560
Inf. v. 10 ccm	9 48	7,23	39	39	45	22	990
5proz. NaCl	10 10				42	14	588
2. Normal	9 51	7,31	42	51	42	20	840
Inf. v. 10 ccm	9 59				48	21	1008
0,9proz. NaCl	10 01	7,20	45,5	40	56	26	1456
3. Normal	9 45	7,23	40	40	48	12	576
Inf. v. 15 ccm	9 49						
0,9proz. NaCl	9 53	7,23	40,5	40	50	15	750

Phosphat.

Zu den Infusionen wurde primäres und sekundäres Phosphat in isotonischen Lösungen verwendet. Sowohl die Infusion des primären

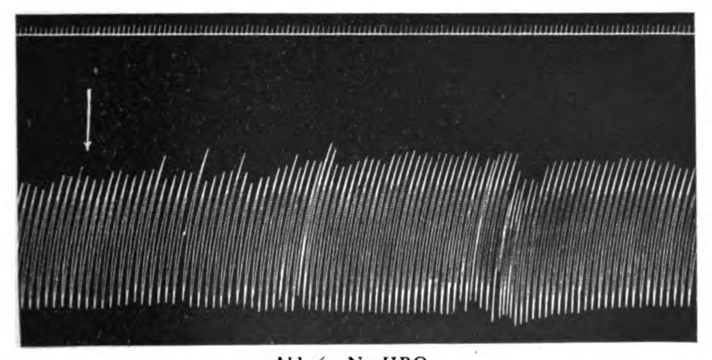


Abb. 6. Na_2HPO_4.
Der Pfeil gibt den Beginn der Infusion an. Zeitschreibung in Sekunden.

als auch die des sekundären Phosphats führte zu einer Steigerung der Atemfrequenz und der Atemtiefe (s. Abb. 6). Mit dem sekundären

Phosphat wurden alkalische Valenzen zugeführt, das CO_2-Bindungsvermögen des Blutes stieg etwas an, die CO_2-Spannung war bei dem Beginn der Hyperpnoe unverändert, sank später ab infolge der vermehrten CO_2-Abgabe, die Blutreaktion wurde etwas alkalisch. Das Phosphation hatte die Erregbarkeit des Atemzentrums gesteigert, so daß ein geringer Blutreiz genügte, eine stärkere Ventilation auszulösen.

Durch die Zufuhr des sauren Phosphats wurde ein Teil der gebundenen CO_2 aus den Alkalibindungen verdrängt, das CO_2-Bindungsvermögen des Blutes nahm ab. Diese Säurewirkung hatte eine Verschiebung der Blutreaktion nach der sauren Seite zur Folge. Wahrscheinlich ist sie für das Auftreten der Hyperpnoe mit verantwortlich. Durch die stärkere Ventilation wird aber CO_2 in solchem Maße abgedunstet, daß die Blutreaktion wieder normal wird; trotzdem dauert die Hyperpnoe fort. In den beiden mitgeteilten Versuchen erfolgte die Blutentnahme auf der Höhe der Ventilationssteigerung, und es dauerte noch längere Zeit, bis sie wieder zur Norm zurückkehrte. Es ist also anzunehmen, daß auch dem Phosphation hier ein Einfluß zukommt, und daß das primäre Phosphat ebenfalls eine erregende Wirkung auf das Zentrum ausübt.

Auch *Starkenstein* beobachtete, daß nach der Injektion einer Phosphatlösung eine Atembeschleunigung auftritt. Die Symptome der Phosphatvergiftung haben nach seinen Beobachtungen eine große Ähnlichkeit mit denen der Oxalatvergiftung. Er erklärt dies durch die kalkfällende Wirkung des Phosphations. Nach Versuchen von *Elias*[1]) an Hunden wird durch die intravenöse Zufuhr von Mono- und Dinatriumphosphat die Nervenerregbarkeit sehr stark erhöht. *György*[2]) weist darauf hin, daß für die Größe des ionisierten Kalkes im Blute außer der H- und Bicarbonationenkonzentration auch der Phosphatgehalt von größtem Einfluß ist und nimmt an, daß eine Erhöhung des Phosphatgehalts durch Beeinflussung des Kalkes tetanigen wirke. *Behrendt* bestimmte nun die Größe der Ca-Ionenkonzentration im Liquor cerebrospinalis direkt und fand, daß das HPO_4-Ion die vorher nur theoretisch vermutete Ca-entionisierende Wirkung tatsächlich besitze. Danach wäre also die zentral erregende Wirkung des Phosphats vielleicht nur eine indirekte.

Es wäre noch kurz auf die Beeinflussung der Mittellage der Atmung durch die Verschiebung des Ionengleichgewichtes einzugehen: Fast immer wurde mit dem Einsetzen der Ca- und Mg-Wirkung die Mittellage im exspiratorischen Sinne verschoben, beim Übergang zur Norm wieder im inspiratorischen. Bei der K- und Ca-Wirkung waren die Verhältnisse umgekehrt. Die Mittellage wurde zunächst im inspiratorischen Sinne verschoben und beim Übergang zur Norm im exspiratorischen.

---

1) *H. Elias*, Zeitschr. f. exper. Med. **11**, 1918.
2) *P. György*, Klin. Wochenschr. **1**, 1393, 1922.

Tabelle VIII.

	Zeit	p_H des arter. Blutes	CO_2-Spannung des arteriellen Blutes	CO_2-Kapazität bei 40 mm	Atemfrequenz pro Minute	Atemtiefe ccm	Minutenvolumen ccm
			Na_2HPO_4.				
1. Normal	10h 00′	7,35	33,0	46,5	42	23	966
Infusion von	10 04						
7 ccm 0,155n	10 05	7,36	33,5	48	45	26	1170
	10 08				50	25	1250
			NaH_2PO_4.				
2. Normal	10 50	7,34	35,0	46,0	45	20	900
Infusion von	10 55						
10 ccm 0,155n	10 57	7,34	31,0	43	50	27	1350
	11 04				45	22	990
+ 7 ccm	11 08						
	11 10				50	25	1250
	11 24				45	21	945
3. Normal	10 20	7,32	37,5	47	48	15	720
Infusion von	10 24						
12 ccm 0,155n	10 27	7,26	30,5	37	48	20	960

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die Versuche ergaben die Möglichkeit, die Erregbarkeit des Atemzentrums durch H-Ionen zu beeinflussen durch die Erhöhung oder Verminderung der Konzentration bestimmter Ionen im Blute. Bei den bisherigen Versuchen einer Einwirkung auf den Zustand des Atemzentrums handelte es sich um die Zufuhr körperfremder Substanzen, um Pharmaka, die teils erregend, teils lähmend wirkten, die mit der physiologischen und pathologischen Erregbarkeitsänderung des Atemzentrums durch Stoffwechselvorgänge im Körper und vor allem im Atemzentrum selbst nichts zu tun hatten. Die hier untersuchten Ionen sind in jeder Körperzelle und Körperflüssigkeit enthalten, Ionen, die für den Erregbarkeitszustand jeder einzelnen Zelle eine sehr große Bedeutung haben. Es zeigte sich, daß für die Konstanterhaltung der Erregbarkeit des Atemzentrums bestimmten Ionen eine Bedeutung zukommt. Die Erregbarkeit des Atemzentrums wird herabgesetzt durch eine Zunahme der Ca- und Mg-Ionen und wird gesteigert durch eine Verminderung der Ca-Ionen, durch eine Erhöhung der K- und Phosphat-Ionenkonzentration im Blute. Ein Einfluß des Na ließ sich aus den mitgeteilten Versuchen nicht mit Sicherheit feststellen. Zwar haben alle diese Ionen auch periphere Wirkung. Jedoch konnten die beobachteten Atemveränderungen dadurch allein nicht erklärt werden, so daß eine Wirkung auf das Atemzentrum angenommen wurde. Eine Beeinflussung des Atemzentrums durch die Erhöhung einer Ionenart im Blute wurde nur dann angenommen, wenn die Blutreaktion und CO_2-Spannung keine Erklärung für die veränderte Lungenventilation gaben.

Beim Na war die Blutreaktion derart durch die NaCl-Infusion beeinflußt worden, daß die resultierende Ventilationssteigerung bei normaler Erregbarkeit des Zentrums sehr wohl nur die Folge des gesteigerten hämatogenen Reizes sein konnte. Es war deshalb nicht möglich zu entscheiden, ob das Na eine zentrale Wirkung habe. Vielleicht ist der Einfluß einzelner Ionen auf das Atemzentrum nur ein indirekter, z. B. beim Phosphat, das die Ca-Dissoziation herabsetzt und so unmittelbar durch Verringerung der Ca-Ionenkonzentration zentral erregen kann. Die genannten Ionen beeinflussen also die Erregbarkeit der nervösen Elemente des Atemzentrums in demselben Sinne wie die Erregbarkeit anderer Zellen und ganz allgemein die Gewebsatmung der Zelle. Die Erregbarkeit des Atemzentrums ist abhängig von der Größe des Quotienten $\frac{[HPO_4'' + H_2PO_4'][K^{\cdot}]}{[Ca^{\cdot\cdot}][Mg^{\cdot\cdot}]}$, wobei die Erregbarkeit mit der Zunahme des Quotienten steigt und mit der Abnahme sinkt. Alles was die Dissoziation verändert, hat auch Einfluß auf die Größe dieses Quotienten. So ist die Dissoziation des Ca abhängig von der Blutreaktion. Durch eine Steigerung der H-Ionenkonzentration wird zwar der Reiz auf das Atemzentrum erhöht, andererseits nimmt nach *Behrendt* bei einer Acidose die Ca-Dissoziation zu, wodurch auch die Reizschwelle des Atemzentrums für H-Ionen erhöht wird, und umgekehrt wird bei einer Alkalose ein geringerer Reiz auf das Zentrum ausgeübt, infolge der Beeinflussung der Ca-Dissoziation die Reizschwelle aber herabgesetzt, da die Verringerung der Ca-Ionen die Erregbarkeit des Zentrums erhöht. Eine Vermehrung der Ca-Ionenkonzentration wird durch Wirkung auf das Atemzentrum zur Acidose, eine Verminderung zur Alkalose führen. Danach würde sich die Erregbarkeit des Zentrums im umgekehrten Sinne wie die H-Ionenkonzentration des Blutes ändern. Dies würde aber nur für den Fall gelten, daß die Konzentration der übrigen in Frage kommenden Ionen unverändert bleibt. Die Erregbarkeit des Zentrums ist aber nicht nur abhängig von der Menge einer bestimmten Ionenart, sondern von einem Gleichgewicht zwischen den einzelnen Ionen. Die Größe der Ca-Ionenkonzentration wird außerdem beeinflußt durch die Bicarbonationen, und wahrscheinlich ist deren Einfluß auf die Ca-Dissoziation und das Kationengleichgewicht bedeutend größer als der der H-Ionen, da z. B. bei einer Alkalose mit erhöhtem Bicarbonatgehalt der Serumkalkwert vermindert gefunden wird, bei einer Alkalose mit normalem Bicarbonatgehalt nahezu unverändert. Gerade die Bicarbonatkonzentration erfährt sehr häufig mit der H-Ionenkonzentration Veränderungen. Es ist also für die Ca-Dissoziation außer der Blutreaktion auch der Bicarbonatgehalt zu berücksichtigen, wie dies *Rona* und *Takahashi* hervorgehoben haben, und ferner der Phosphatgehalt. Wenn *Haldane* angibt, daß nach Bi-

carbonatdarreichung der Ca-Gehalt des Serums enorm sinkt (10 bis 20 Proz.), so ist dies zum Teil eine direkte Wirkung des Bicarbonats, zum Teil eine indirekte durch Beeinflussung der Blutreaktion im Sinne einer Alkalose. *Budde* und *Freudenberg*[1]) fanden, daß auch Glykokoll und Harnstoff die Ca-Ionenkonzentration vermindern.

Wie weit überhaupt indirekte Beeinflussungen eine Rolle spielen, läßt sich nicht entscheiden. Es wäre auch bei dem Mg und K an derartige Vorgänge zu denken, denn bei der Zufuhr von Mg und K nimmt ja die Ca-Ausscheidung im Harne zu.

Für die Aufrechterhaltung des normalen Kationengleichgewichts stellt nun die Niere ein wichtiges Regulationsorgan dar. *Haldane* führt dies in folgender Weise aus: „Die Niere hat nicht nur die Aufgabe, auf die kleinsten Veränderungen des Säure-Basengleichgewichtes zu reagieren, sondern auch das Verhältnis von Na und K und anderen Kristalloiden im Blute normal zu halten. Auf diese Weise wird auch die CO_2-Dissoziationskurve normal gehalten."

Zunächst gelten die hier gemachten Beobachtungen über die Erregbarkeit des Atemzentrums nur für das Kaninchen. Jedoch ist anzunehmen, daß sie mit quantitativen Unterschieden auch für die Verhältnisse beim Menschen zutreffen. Das Kaninchen reguliert seine Atmung nicht so streng auf eine bestimmte H-Ionenkonzentration wie z. B. der Mensch [*Beckmann*[2])], so daß also wohl durch die Infusionen stärkere Abweichungen von der normalen Reaktion erhalten wurden und vielleicht auch die Reaktion des Zentrums eine geringere war, wie dies beim Menschen zu erwarten wäre. Ein prinzipieller Unterschied in der Ionenwirkung auf das Atemzentrum des Kaninchens und des Menschen kann nicht bestehen. Bei der Wichtigkeit, die diese Frage für pathologische Störungen besitzt, ist aber erforderlich, diese Vorgänge auch am Menschen näher zu studieren.

Diese Ionenwirkungen auf die Erregbarkeit des Atemzentrums haben eine um so größere Bedeutung, als die Ionenkonzentration im Blute nur unter normalen Verhältnissen konstant gehalten wird. In pathologischen Zuständen, bei Störungen des Mineralstoffwechsels, finden wir erhebliche Abweichungen von normalen Werten. Es sei zunächst an die Tetanie erinnert. Bei verschiedenen Tetanieformen ist die Ca-Ionenkonzentration im Blute vermindert. Bei der Mehrzahl von ihnen finden sich aber auch Störungen im Säure-Basengleichgewicht, Störungen in der Blutreaktion. Die Blutreaktion wird alkalisch, kann sogar sehr stark alkalische Werte erreichen, ohne daß Störungen der Atemtätigkeit zu beobachten sind. Stellt aber die H-Ionenkonzen-

---

[1]) *O. Budde* und *E. Freudenberg*, Klin. Wochenschr. **3**, 232, 1924.
[2]) *Beckmann*, unveröffentlichte Versuche.

tration den physiologischen Reiz für die Auslösung der Atemtätigkeit dar und verringert jede Abnahme der H-Ionenkonzentration diesen Reiz, so wäre zu erwarten, daß das Zentrum darauf mit einer enormen Verlangsamung der Atmung reagiert, oder daß überhaupt ein apnoischer Zustand eintritt. Daß dies nicht erfolgt, würde sich aus einer Erhöhung der Erregbarkeit des Atemzentrums infolge der verminderten Ca-Ionenmenge erklären, wobei ein viel geringerer Reiz genügt, die normale Atemtätigkeit zu unterhalten. Andererseits wird durch diese Änderung im Schwellenwert auch die Höhe der H-Ionenkonzentration im Blute anders eingestellt. Ferner ist nach *Greenwald*[1]), *Nelken*[2]), *György* und *Vollmer*[3]) und anderen bei der Tetanie der Phosphatgehalt im Blute vermehrt und ebenso der K-Gehalt (*Kramer*, *Tisdall* und *Howland*), wodurch die Erregbarkeit des Zentrums ebenfalls gesteigert werden kann. Die erhöhte Ventilation bei der Guanidintetanie[4]) kann auf die Hemmung der Ca-Bildung und die Verminderung der Ca-Ionen im Blute und dadurch bedingte Steigerung der Erregbarkeit des Atemzentrums bezogen werden.

Untersuchungen der letzten Jahre haben uns gezeigt, daß auch bei Nierenerkrankungen Störungen im Kationengleichgewicht neben Störungen im Säure-Basengleichgewicht auftreten, was bei der Bedeutung der normalen Nierenfunktion für die Aufrechterhaltung eines Kationengleichgewichtes leicht verständlich ist. Es wird deshalb mit Recht auf die Wichtigkeit einer Bestimmung des Kationengehaltes des Blutes von Nierenkranken hingewiesen neben der Untersuchung des Reststickstoff- und Kochsalzgehaltes. *Wesselow*[5]) gibt an, daß bei schweren Nierenerkrankungen der Ca-Gehalt des Blutes vermindert sein kann. *Zondek*, *Petow* und *Siebert*[6]) glauben, daß eine Funktionsstörung der Niere an der Störung des Kationengleichgewichtes zu erkennen sei, vor allem an der Verminderung der Ca- und Erhöhung der K-Ionenkonzentration. *Ollmer*, *Pagan* und *Berthier*[7]) fanden einen erhöhten K-Wert im Blute besonders bei Nephritikern mit Stickstoffretention und Urämie. Ferner ist der Phosphatgehalt bei Nierenerkrankungen häufig gesteigert [*Greenwald*, *Feigl*[8]), *Wesselow*]. Auch

---

[1]) *Greenwald*, Journ. of. biol. Chem. **14**, 521, 1923.

[2]) *Nelken*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **32**, 348, 1923.

[3]) *György* und *Vollmer*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **45**, 200, 1922.

[4]) *Kl. Gollwitzer-Meier*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **40**, 59, 1924.

[5]) *O. de Wesselow*, Quaterly Journ. of Med. **16**, 341, 1923.

[6]) *H. Zondek*, *H. Petow* und *W. Siebert*, Zeitschr. f. klin. Med. **99**, 129, 1923; Klin. Wochenschr. 1922.

[7]) *Ollmer*, *Pagen* und *Berthier*, C. r. d. séanc. d. l. soc. d. biol. **87**, 867. 1912.

[8]) *Feigl*, diese Zeitschr. 81, 380, 1917; **83**, 81 u. 217, 1917; **92**, 1, 1918; **111**, 108, 1920.

bei einer Reihe anderer Erkrankungen, z. B. der innersekretorischen Organe, können Störungen im Kationengleichgewicht auftreten.

Es sei auch auf die therapeutische Verwendung von Bicarbonat und Ammoniumchlorid hingewiesen. Die Zufuhr großer Mengen dieser beiden Stoffe beeinflußt das Ionengleichgewicht im Blute sehr stark. Durch Bicarbonat wird, wie schon erörtert, die Blutreaktion alkalischer, der Bicarbonatgehalt nimmt zu, die Ca-Ionenkonzentration ab. Bei der Verabreichung von Ammoniumchlorid, das infolge seiner Säurewirkung bei der Tetaniebehandlung Verwendung findet zur Verminderung der Blutalkaleszenz und der Pyelitisbehandlung zur Verminderung der Urinalkaleszenz, sinkt das CO_2-Bindungsvermögen des Blutes. Auch die alveolare CO_2-Spannung wird infolge einer etwas beschleunigteren Atmung (*Haldane*) niedriger, jedoch ist die Atemtätigkeit nicht intensiv genug, um die CO_2-Spannung so weit herabzusetzen, daß eine normale Blutreaktion resultiert. In zwei von mir untersuchten Fällen war die Blutreaktion deutlich saurer geworden, nachdem die Patienten 3 Tage lang eine größere Menge Ammoniumchlorid per os erhalten hatten. Trotzdem war in der Ruhe keine Dyspnoe zu beobachten. Die Reaktion des Atemzentrums auf diese erhöhte H-Ionenkonzentration war auffallend gering. Nun fand *Haldane*, daß durch Ammoniumchloridzufuhr der Ca-Gehalt des Serums um 10 Proz. steigen kann. Verringert Ca die Erregbarkeit des Atemzentrums, so könnte die mangelhafte Reaktion des Atemzentrums trotz erhöhter H-Ionenkonzentration auf eine verminderte zentrale Erregbarkeit bezogen werden.

Schließlich wäre noch auf physiologische Schwankungen im Mineralgehalt des Blutes einzugehen. *Kramer*, *Casparis* und *Howland*[1]), *Hess* und *Lundagen*[2]) beobachteten, daß die Menge des anorganischen Phosphors im Blute durch Bestrahlung mit ultravioletten Strahlen gesteigert werden kann, ferner, daß der Phosphatgehalt des Blutes jährlichen Schwankungen unterliegt (*Hess* und *Lundagen*). Durch Untersuchungen von *Straub*, *Meier* und *Schlagintweit*[3]) sind auch für die Blutreaktion des Menschen jährliche Schwankungen nachgewiesen worden. Durch die Atmungsregulation wird also zu verschiedenen Jahreszeiten die H-Ionenkonzentration des Blutes verschieden eingestellt. Würde es sich bestätigen, daß auch im Mineralstoffwechsel jährliche Schwankungen bestehen, so können die Schwankungen der

---

[1]) *Kramer, Casparis* und *Howland,* Amer. Journ. of dis. of childs. **24**, 20, 1922.

[2]) *Hess* und *Lundagen,* Proc. of the soc. for exper. Biol. and Med. **19**, 380, 1922.

[3]) *H. Straub, Kl. Meier* und *E. Schlagintweit,* Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **32**, 229, 1923.

Wasserstoffzahl im Laufe eines Jahres mit einer Änderung der Erregbarkeit des Zentrums erklärt werden, deren erste Ursache im Mineralstoffwechsel zu suchen wäre. Die Beobachtung *Hasselbalchs* und *Lindhards*, daß in einzelnen Fällen durch die Bestrahlung mit ultraviolettem Licht die Erregbarkeit des Atemzentrums sich ändert, wäre dann wahrscheinlich auch auf die Beeinflussung des Kationengleichgewichtes im Blute zu beziehen.

Eine sehr starke Änderung erfährt die Erregbarkeit des Atemzentrums im Schlafe, und zwar wird die Erregbarkeit des Zentrums herabgesetzt, die Blutreaktion wird saurer. Es wäre demnach vielleicht auch im Schlafe eine Kationenstörung zu erwarten, im Zusammenhang mit der Bildung irgendwelcher Ermüdungsstoffe. Bis jetzt scheinen Untersuchungen über den Kationengehalt des Blutes während des Schlafes nicht vorzuliegen. Es ist nur durch *Kleitman*[1]) eine vermehrte Phosphatausscheidung im Harn während des Schlafes nachgewiesen worden.

In der einfachsten Weise wird die Kationenkonzentration im Blute durch die zugeführte Nahrung beeinflußt, jedoch sind die hier auftretenden Schwankungen sehr gering, und ihre Wirkung auf das Atemzentrum entzieht sich wahrscheinlich meist ganz der Beobachtung. Die Schwankungen im Mineralhaushalt unter dem Nahrungseinfluß sind bei Kaninchen besonders deutlich. Vielleicht hängt damit die Erscheinung zusammen, daß sie ihre Blutreaktion viel weniger konstant zu halten imstande sind wie z. B. der Mensch. Nach *Gamble*, *Ross* und *Tisdall*[2]) nimmt beim Menschen im Hunger der Ca-Gehalt erheblich zu, der K-Gehalt ab. Die Veränderungen im Kationengleichgewicht würden danach also im Hunger zu einer Herabsetzung der Erregbarkeit des Atemzentrums und zur Acidose führen. Jedoch lassen sich vorläufig auf Grund der sehr geringen Untersuchungen keine weiteren Schlüsse ziehen. Beim Menschen sind die Veränderungen der Erregbarkeit des Atemzentrums durch Diäteinflüsse nicht nachweisbar (*Hasselbalch*).

Die Verhältnisse werden dadurch sehr kompliziert, daß nicht die Untersuchung einer bestimmten Ionenart, z. B. des sehr wirksamen Ca allein genügt, sondern daß auch alle übrigen Ionen dabei mit zu berücksichtigen sind, der Antagonismus einzelner Ionen und die Möglichkeit einer funktionellen Vertretung eines Ions durch ein anderes.

Zusammenfassung.

Nach Versuchen an Kaninchen ist die Erregbarkeit des Atemzentrums abhängig von einem Ionengleichgewicht im Blute und ändert

[1]) *N. Kleitman*, Amer. Journ. of Physiol. **66**, 67, 1923.
[2]) *Gamble*, *Ross* und *Tisdall*, Journ. of biol. chem. **57**, 633, 1923

sich mit der Größe des Quotienten $\frac{[HPO_4'' + H_2PO_4'][K^{\cdot}]}{[Ca^{\cdot\cdot}][Mg^{\cdot\cdot}]}$. Eine Zunahme der HPO_4-, H_2PO_4- und K-Ionen und ebenso eine Abnahme der Ca-Ionen erhöht die Erregbarkeit, eine Zunahme der Ca- und Mg-Ionen verringert sie. Der Einfluß des Ca auf die Atmung bleibt bei alkalischer Blutreaktion und bei vorhergehender Oxalatinfusion aus. Ein sicherer Einfluß des Na ließ sich nicht feststellen. Das Phosphat wirkt wahrscheinlich nur indirekt durch Änderung der Ca-Dissoziation. Die Reaktion des Atemzentrums auf eine bestimmte H-Ionenkonzentration hängt von dem Gleichgewicht der genannten Ionen im Blute ab. Diese Beobachtungen haben klinische Bedeutung, insofern bei Mineralstoffwechselstörungen vor allem der Kationengehalt des Organismus starke Veränderungen erleiden kann. Gerade da findet man aber auch häufig Abweichungen der Blutreaktion von der Norm, also Einstellung der Atemtätigkeit auf eine andere H-Ionenkonzentration, die durch Verschiebungen der Reizschwelle des Zentrums infolge des gestörten Ionengleichgewichts zu erklären wäre.

$MgCl_2$, $CaCl_2$ und $NaCl$ intravenös infundiert, haben Säurewirkung. Es findet dabei eine Verdrängung des CO_2 aus ihren Alkaliverbindungen statt.

Für diese Arbeit stand mir eine Forschungsbeihilfe der Rockefeller-Foundation zur Verfügung, für die ich auch hier bestens danke.

Hypoglykämie und Tierpassage.

Von

A. Stasiak.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Budapest.)

(Eingegangen am 27. Juli 1924.)

Anschließend an die mit Insulin angestellten Versuche konnte *Collip* (1) eine Reihe solcher Pflanzenextrakte (Glucokinin) darstellen, welche ähnlich wie Insulin, Kaninchen subkutan injiziert, ein Sinken des Blutzuckers zur Folge haben. Dabei konnte er öfters beobachten, daß einige Kaninchen sich refraktär verhielten bei solchen Mengen der Pflanzenextrakte, welche bei den übrigen Tieren zu Hypoglykämie und Krämpfen führten. Entnahm er jedoch Blut solcher sich refraktär verhaltender Tiere und spritzte dasselbe defibriniert anderen, normalen Kaninchen ein, so entstand bei letzteren Hypoglykämie, die schließlich zum Tode führte. Ähnliche Wirkung hatte das Blut auch solcher Tiere, die vormals mit Insulin oder Guanidin behandelt wurden, ja selbst auch derer, welche spontane (richtiger durch Coccidose der Leber verursachte) Hypoglykämie aufwiesen. *Collip* spricht die Vermutung aus, daß den durch verschiedene Ursachen hervorgerufenen Hypoglykämien eine Schädigung der Leber zugrunde liegt und der dadurch entstehende Faktor, welcher die Hypoglykämie verursacht, ist durch Passage von einem Tiere auf das andere übertragbar. Dabei genügen bereits sehr kleine (0,05 ccm) Blutmengen des erkrankten Tieres, um in einem normalen Tiere dieselben hypoglykämischen Symptome hervorzurufen.

Die vorliegenden Versuche sollten zur Nachprüfung von *Collips* Beobachtungen dienen und zeigen, ob Gifte, die zur Hypoglykämie führen, solche Veränderungen im Blute des Versuchstieres hervorrufen, welche mit dem Blute desselben in ein normales Tier übertragbar sind und in diesem dieselben Erscheinungen hervorrufen können.

Als Versuchstiere wurden zuerst Katzen, dann Kaninchen verwendet. Sämtliche Tiere wurden erst nach 24- bis 36stündigem Hungern zu den Versuchen verwandt und bekamen während der ganzen Versuchsdauer keine Nahrung. Das Blut wurde bei Katzen aus dem Schwanze, bei Kaninchen aus der Marginalvene des Ohres entnommen und der

Zucker darin nach *Bangs* Mikromethode in der *Ernst-Weiss*schen (2) Modifikation bestimmt.

In drei Versuchsreihen (zweimal an Katzen, einmal an Kaninchen) wurden die Tiere mit Insulin (aus der Richterschen Fabrik Ujpest) behandelt. In anderen Versuchsreihen sollten andere, Hypoglykämie erzeugende Mittel geprüft werden. Als solche wählte ich einesteils, so wie es auch *Collip* tat, Guanidin, und zwar Guanidinum hydrochloricum *Merck*, anderenteils wählte ich als ein Gift, welches die Leber angreift und nach *Underhills* (3) Untersuchungen Hypoglykämie verursacht, Hydrazinum sulfuricum. Den Tieren, die mit den genannten Substanzen behandelt wurden, entnahm ich möglichst steril 10 bis 15 ccm Blut, defibrinierte dasselbe mit Glasperlen und injizierte es subkutan normalen Hungertieren, deren Blutzucker dann in ein- bis zweistündlichen Intervallen untersucht wurde.

Da das injizierte defibrinierte Blut an sich selbst als Eiweißfremdkörper einen Einfluß auf den Blutzucker ausüben könnte, wurde im Vorversuch das Blut einer normalen Katze einer anderen normalen Katze subkutan injiziert und der Blutzucker verfolgt. Das Ergebnis zeigt folgende Tabelle:

1. Katze, normal. Körpergewicht 2,5 kg.

Zeit	Blutzucker Proz.	Bemerkungen
4. III. vormittags 10h 30′	0,146	11h 2 ccm normales Katzenblut subkutan
nachmittags 1	0,142	
4	0,138	
6 30	0,142	

Die Schwankungen des Blutzuckers sind minimal, meistens binnen der Grenzen des Versuchsfehlers.

Nun erst begann ich die eigentlichen Versuche, indem ich die Tiere mit Insulin behandelte. Die Ergebnisse zeigen folgende Tabellen:

Zeit	Blutzucker Proz.	Bemerkungen
1. Katze, Körpergewicht 2,5 kg.		
6. III. vormittags 11h	0,121	12h 1 ccm = 4 Einheiten Insulin subkutan
nachmittags 2	0,067	2 h 30′ weitere 0,3 ccm Insulin
3 55′	0,033	
4 30	0,033	Krämpfe; Brusthöhle in Äthernarkose eröffnet; Herzpunktion; Blut defibriniert
2. Katze, Körpergewicht 3 kg.		
7. III. vormittags 11h	0,106	11 h 55′ 4 ccm Blut von Katze 1 subkutan
nachmittags 2 30′	0,100	
6	0,091	
8. III. vormittags 11	0,091	

Zeit	Blutzucker Proz.	Bemerkungen
2. Katze, Körpergewicht 2,5 kg.		
17. III. nachmittags 12h 30′	0,063	9 h 55′ 1 ccm = 5 Einheiten Insulin subkutan
2 30	0,040	3 h 30′ Krämpfe. 4 h 30′ Exitus. Brusthöhle sofort eröffnet; Herzpunktion; Blut defibriniert
3. Katze, Körpergewicht 4 kg.		
18. III. vormittags 9h 30′	0,106	9 h 55′ 8 ccm Blut von Katze 2 subkutan
11 30	0,112	
nachmittags 2	0,115	
4 30	0,112	
7	0,109	
19. III. vormittags 8 55	0,117	
1. Kaninchen, Körpergewicht 1 kg.		
28. III. nachmittags 2h 30′	0,102	3 h 3,3 Einheiten Insulin subkutan
6	0,063	6 h 30′ Krämpfe; 7 h durch Nackenschlag getötet; Brusthöhle eröffnet; Herzpunktion
2. Kaninchen, Körpergewicht 1,25 kg.		
29. III. vormittags 10h	0,106	10 h 30′ 9 ccm Blut von Kaninchen 1 subkutan
nachmittags 1 30′	0,106	
5	0,116	

Eine nennenswerte Veränderung des Blutzuckers bei der Tierpassage kann in keinem Falle vermerkt werden. Sämtliche Tiere verhielten sich ganz normal, der hypoglykämische Symptomenkomplex oder gar Exitus, wie ihn *Collip* beschreibt, kam in keinem Falle zur Beobachtung.

In den nächsten Versuchen wurden die Tiere mit Guanidinum hydrochloricum (*Merck*) behandelt. Nach *Watanabe* (4) sind es 0,1 bis 0,2 g pro Kilogramm Körpergewicht in 10proz. Lösung subkutan injiziert, welche bei Kaninchen Hypoglykämie verursachen. Im Vorversuch überzeugte ich mich, daß 0,1 g Guanidin pro Kilogramm Körpergewicht den Blutzucker des Kaninchens von 0,144 Proz. nach 7 Stunden auf 0,092 Proz. herabdrückte; eine größere Senkung des Blutzuckers konnte auch bei größer gewählten Dosen nicht erreicht werden; meistens jedoch entstand eine Hyperglykämie.

Das Ergebnis der Passageversuche zeigt folgende Tabelle:

Zeit	Blutzucker Proz.	Bemerkungen
7. Kaninchen, Körpergewicht 1,7 kg.		
4. VI. vormittags 10h	0,135	10 h 15′ 0,4 g Guanidinum hydrochlor. subkutan
11 15′	0,116	12 h 30′ Unruhe, Schüttelbewegungen am Kopfe, Opisthotonus. Blutentnahme aus der Marginalvene des Ohres gelingt nicht.
	0,275	3 h 30′ Entblutung; Blut defibriniert; dann Blutzucker

Zeit		Blutzucker Proz.	Bemerkungen
	8. Kaninchen, Körpergewicht 2 kg.		
5. VI.	vormittags 9h	0,138	9h 30' 9 ccm Blut von Kaninchen 7 subkutan
	11 15'	0,123	
	nachmittags 12 55	0,127	
	2 30	0,131	
	4	0,135	
	6 30	0,123	
	9. Kaninchen, Körpergewicht 1,78 kg.		
11. VI.	vormittags 9h	0,131	9h 15' 0,3 g Guanidinum hydrochlor. subkutan
	10 15'	0,150	
	11 15	0,142	Kopfschütteln und Tremor, Unruhe
	nachmittags 12 55	0,150	Unruhe
	3	0,133	
	5	0,138	Unruhe
	6 30	0,165	7h Blutentnahme aus der Marginalvene des Ohres; Blut defibriniert
	10. Kaninchen, Körpergewicht 1,9 kg.		
12. VI.	vormittags 11h 30'	0,110	12h 3,5 ccm Blut von Kaninchen 9 subkutan
	nachmittags 1 15	0,110	
	2 30	0,106	
	4 30	0,105	
	7	0,110	

Es sei bemerkt, daß bei Kaninchen 7 eine größere Dosis, 0,2 g pro Kilogramm Körpergewicht, angewandt wurde, welche zum Tode des Tieres führte, und daß der Blutzucker nach einer anfänglichen Senkung eine Erhöhung um das Doppelte aufwies. Ähnliches beobachtete auch *Watanabe.*

Wie aus den mitgeteilten Daten ersichtlich, konnte ich eine ausgesprochene Hypoglykämie auch bei diesen Passageversuchen nicht beobachten.

Schließlich wollte ich noch ein nach *Underhills* Versuchen ausgesprochenes Lebergift, das Hydrazinum sulfuricum auf seine Wirkung im Passageversuch prüfen. Nach *Underhill* verursachen 25 mg Hydrazinsulfat pro Kilogramm Körpergewicht, subkutan injiziert, bei den meisten Kaninchen Hypoglykämie, doch gibt es auch viele Fälle, wo sich die Tiere bei derselben und noch größeren Dosen gänzlich refraktär verhalten. Dieselbe Erfahrung mußte auch ich machen. Doch da *Collip* bei seinen Versuchen mit Glucokinin erwähnt, daß das Blut solcher Tiere, die mit Pflanzenextrakten behandelt keine Hypoglykämie aufwiesen, im Passageversuch doch tödlich wirkte, so benutzte ich bei den Hydrazinversuchen auch das Blut jener Tiere zum Passageversuch, die sich refraktär verhielten.

Im folgenden seien meine diesbezüglichen Beobachtungen mitgeteilt:

Zeit			Blutzucker Proz.	Bemerkungen
		3. Kaninchen, Körpergewicht 1,5 kg.		
9. IV.	vormittags	11h	0,133	11 h 30′ 50 mg Hydrazinsulfat (*Merck*) in 2,5 proz. Lösung subkutan
	nachmittags	6	0,083	
		8 30′	0,100	8 h 55′ Blutentnahme aus der Marginalvene des Ohres; Blut defibriniert
		4. Kaninchen, Körpergewicht 3 kg.		
10. IV.	vormittags	11h	0,153	11 h 15′ 6,5 ccm Blut von Kaninchen 3 subkutan
	nachmittags	4 30′	0,088	
		7 30	0,072	
11. IV.	nachmittags	5	0,092	
		5. Kaninchen, Körpergewicht 3 kg.		
24. IV.	vormittags	11h	0,107	11 h 15′ 75 mg Hydrazinsulfat subkutan
	nachmittags	4	0,107	große Niedergeschlagenheit, Apathie
		6 30′	0,113	7 h 30′ Blutentnahme aus der Marginalvene des Ohres; Blut defibriniert
		6. Kaninchen, Körpergewicht 1,75 kg.		
25. IV.	vormittags	10h	0,123	10 h 30′ 7 ccm Blut von Kaninchen 5 subkutan
	nachmittags	1 30′	0,152	
		4 30	0,181	
		7	0,107	
26. IV.	vormittags	11 30	0,097	
		11. Kaninchen, Körpergewicht 1,75 kg.		
13. VI.	vormittags	9h	0,131	9 h 55′ 50 mg Hydrazinsulfat subkutan
		10 55′	0,120	
		11 55	0,123	
	nachmittags	1 30	0,127	Tier apathisch, regungslos
		3	0,112	
		5	0,103	
		7 15	0,101	7 h 30′ Blutentnahme; Blut defibriniert
		12. Kaninchen, Körpergewicht 1,9 kg.		
14. VI.	vormittags	10h	0,108	10 h 30′ 10 ccm Blut von Kaninchen 11 subkutan
		11 30′	0,108	
	nachmittags	12 30	0,123	
		2	0,117	
		4	0,103	
		6 30	0,108	
15. VI.	vormittags	10	0,108	

In diesen Versuchsreihen gelang es zum erstenmal, im Passageversuch eine Senkung des Blutzuckers zu beobachten, doch ist diese Erscheinung nicht konstant, da sie in der dritten Versuchsreihe nicht auftrat. Im ersten Falle fiel der Blutzucker im Passageversuch von 0,153 Proz. nach 8 Stunden auf 0,088 Proz., im zweiten Falle von 0,123 Proz. nach vorhergehender Hyperglykämie bis zum nächsten Tage vormittags auf 0,097 Proz. Im dritten Falle ergab sich ein geringes Ansteigen des Blutzuckers in den ersten 3 bis 4 Stunden nach der Injektion. Sämtliche Passagetiere verhielten sich ganz normal, zeigten keinerlei krankhafte Erscheinungen.

Aus den mitgeteilten Versuchen folgt, daß einzig das Hydrazinsulfat mit großer Vorsicht als solch eine Substanz zu betrachten ist, welche im Blute des behandelten Tieres solche Veränderungen hervorrufen kann, daß dasselbe, einem Normaltiere subkutan injiziert, bei demselben auch einen gewissen Grad von Hypoglykämie verursachen kann.

Ob hier nun wirklich eine Schädigung der Leber eine Rolle spielt und ob der positive Ausfall eines Passageversuchs sozusagen als Funktionsprüfung der Leber zu betrachten ist, muß durch weitere Versuche sichergestellt werden.

Zusammenfassung.

1. Im Gegensatz zu *Collips* Untersuchungen konnte im Blute insulingespritzter Tiere kein solcher Faktor gefunden werden, der im Tierpassageversuch eine hypoglykämische Wirkung hätte.

2. Dasselbe negative Ergebnis haben die Guanidinpassageversuche.

3. In einigen Fällen scheint das Blut hydrazinsulfatbehandelter Kaninchen, in andere normale Kaninchen subkutan injiziert, eine gewisse Hypoglykämie verursachen zu können.

Die Kosten der Versuchstiere wurden zum Teil mit einer durch die „Tudományментö bizottság" zur Verfügung gestellten Summe bestritten.

Literatur.

1) *Collip*, Journ. of biol. Chem. **57**, 65, 1923; **58**, 163, 1923. — 2) *Ernst-Weiss*, Wien. klin. Wochenschr. **34**, 174, 1921. — 3) *Underhill*, Journ. of biol. Chem. **10**, 159, 1911. — 4) *Watanabe*, ebendaselbst **33**, 253, 1918.

Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Salzflockung der Serumeiweißkörper. I.

Von

J. Csapó und D. v. Klobusitzky.

(Aus dem physiologischen Institut der kgl. Pázmány-Universität in Budapest.)

(Eingegangen am 27. Juli 1924.)

Die zwei Eiweißfraktionen des Serums (Albumin und Globulin) werden zumeist durch Salze ausgeschieden, da das Globulin verhältnismäßig durch geringere Salzkonzentration ausfällt als das Albumin [Na_2SO_4; $(NH_4)_2SO_4$]. Globulin wird gewöhnlich mit halbgesättigter $(NH_4)_2SO_4$-, oder mit gesättigter NaCl-Lösung gefällt; Albumin mit gesättigter $(NH_4)_2SO_4$-Lösung, oder mit konzentrierter NaCl-Lösung bei saurer Reaktion. Gleichfalls kann Albumin durch halbgesättigte $(NH_4)_2SO_4$-Lösung gefällt werden, wenn das Serum bedeutend angesäuert wird, wie es z. B. bei der Herstellung des kristallisierten Serumalbumins geschieht. Schon aus diesen zwei Tatsachen ist ersichtlich, daß die Fällungskraft der Salze sich nach der Reaktion des Mediums ändert. *Pauli*[1]), *Höber*[2]), *Michaelis*[3]) und andere haben sich schon vor zwei Jahrzehnten mit dieser Frage beschäftigt und sind — ohne die Menge des gefällten Eiweißes genau untersucht zu haben — auch zu dem Resultat gelangt, daß *die Wasserstoffionenkonzentration* ($C_{H^{\cdot}}$) *die Flockungskraft der Salze ändert.*

In neuester Zeit hat *Rusznyák*[4]) seine Forschungsergebnisse veröffentlicht, in welchen er mit der nephelometrischen Methode zeigt, daß aus dem angesäuerten Serum mehr Eiweiß ausfällt als aus dem nativen. *Rusznyák* schließt daraus, daß sich in saurer Lösung Albumin

---

[1]) *W. Pauli*, Beitr. zur chem. Physiol. u. Pathol. **5**, 27; **7**, 531; **10**, 53; **11**, 415.

[2]) *R. Höber*, ebendaselbst **11**, 35.

[3]) *Michaelis, Pincussohn* und *Rona*, diese Zeitschr. **6**, 1.

[4]) *S. Rusznyák*, ebendaselbst **140**, 179.

in Globulin umwandelt. Die globulinvermehrende Wirkung der einzelnen Säuren (HNO_3, HCl, H_2SO_4, COOH—COOH, Citronensäure) ist verschieden, und *Rusznyák* selbst stellt die Frage, ob bei der globulinvermehrenden Wirkung der Säuren nicht $C_{H^\cdot}$ eine Rolle spielt? Er hat auch den Einfluß der Laugen auf den Albumin-Globulinquotienten geprüft und fand, daß bei einer Laugenkonzentration von n/80 bis n/60 die Menge des Albumins, bei einer stärkeren (n/10) die des Globulins zunimmt.

Die Frage der Umwandlung des Albumins in Globulin hat schon vor *Rusznyák* auch andere Autoren beschäftigt, aber keiner von ihnen gibt darauf eine die Frage endgültig entscheidende Antwort. Die Umwandlung des Albumins in Globulin — was schon an sich nicht nur aus kolloidchemischen, sondern auch aus physiologischen Gesichtspunkten bedeutungsvoll wäre — hat uns zur quantitativen Untersuchung der Fällungskraft der Salze bei verschiedener $C_{H^\cdot}$ bestimmt.

Durch die Untersuchungen von *J. Loeb, Pauli* und seiner Mitarbeiter haben wir einen ziemlich klaren Einblick in die Ionisationsverhältnisse der Eiweißsalze und wissen von einer engen Verbindung zwischen Ionisation und $C_{H^\cdot}$. Unsere Untersuchungen sind also geeignet, das Verhältnis zwischen Salzwirkung und Ionisation zu klären.

Die Methode war folgende: Das von der Schlachtbank bezogene Blut wurde defibriniert und je 1 ccm des zentrifugierten Pferdeserums in Eprouvetten gefüllt. Zu den ersten zwei Röhrchen der Serie wurden 3 ccm, zu den übrigen abnehmend so viel weniger destilliertes Wasser abgemessen, als Säure oder Lauge zu denselben zugegeben wurde. Danach von der dritten Eprouvette aufwärts zunehmend die Säure- bzw. Laugemenge abgemessen, so daß in jedem Röhrchen das Volumen der zwei Flüssigkeiten (Säure oder Lauge + destilliertes Wasser) gleich — also 3 ccm — war. Zu den ersten Röhrchen kam 15 ccm physiologische NaCl-Lösung für Bestimmung des Gesamteiweißes, zu den übrigen das zur Ausscheidung gebrauchte Salz in gleichen Mengen (15 ccm). Zu den Wasserstoffionenkonzentrationsmessungen haben wir eine andere, genau solche Serie bereitet. Da aber die $C_{H^\cdot}$ in solchen konzentrierten Salzlösungen auf physiko-chemischem Wege sehr schwer zu messen sind und die durch uns verwendeten Salze absolut neutrale Lösungen geben, so konnten wir die letzteren mit äquivalenten Mengen physiologischer NaCl-Lösung ersetzen.

Im ersten Teile unserer Versuche haben wir die durch *Musa*[1]) empfohlene *Howe*sche Methode befolgt, welche darin besteht, daß man mit 22,2proz. wasserfreiem Na_2SO_4 das Globulin von dem Albumin abscheidet und nach dreistündigem Stehen bei 37° C im Thermostat die erhaltene Flockung bei derselben Temperatur filtriert. Im zweiten Teile wurde gesättigte NaCl-Lösung verwendet, zur vollen Sättigung wurde außerdem 1 g im Exsikkator getrocknetes, kristallisiertes NaCl zugefügt, so daß in den Eprouvetten ungelöstes NaCl stets vorhanden war. Diese Serien ließen wir ebenfalls 3 Stunden stehen, aber bei Zimmertemperatur. Die Filtration

[1]) *G. Musa*, Klin. Wochenschr. 2, 1591.

wurde mit *Schleicher-Schüll*schem Filtrierpapier so lange durchgeführt, bis wir ein wasserklares Filtrat erhielten. Aus den Filtraten wurden 2 ccm in einen 100 ccm fassenden Kjeldahlkolben gemessen. Die Stickstoffbestimmungen sind mit demselben Mikro-Kjeldahlapparate und auf dieselbe Weise durchgeführt worden, wie *Mosonyi*[1]) bei seinen Reststickstoffbestimmungen ausführlich berichtet. Mit Rücksicht auf die Fehler, welche durch die Zersetzung des Eiweißes einschleichen könnten, wurden die Filtrate binnen 24 Stunden verarbeitet; im Falle einer Verzögerung auf Eis gelegt. Um die störende Wirkung des CO_2 bei den $C_H\cdot$-Messungen möglichst zu eliminieren, wurde die Lauge zu der Serum-NaCl-Lösung unmittelbar vor den $C_H\cdot$-Messungen zugefügt. Aus obigem Verfahren ergibt sich, daß wir $MgSO_4$ und $(NH_4)_2SO_4$ nicht verwenden konnten, da das erstere selbst eine saure Lösung gibt und so können die mit physiologischer NaCl-Lösung abgemessenen $C_H\cdot$ nicht übereinstimmen mit der $C_H\cdot$ der Serum-$MgSO_4$-Lösung; von $(NH_4)_2SO_4$ mußten wir absehen, da hierbei das Mikro-Kjeldahlverfahren unbrauchbar gewesen wäre.

Wir möchten noch, *was die Filtration betrifft*, einige Bemerkungen zufügen, um daraus auf die feine Verteilung der Eiweißflocken einige Schlüsse zu ziehen. Bei den ersten Röhrchen der sauren Serien gelingt es erst nach sechs- bis achtmaligem Filtrieren ein wasserklares Filtrat zu erzielen. Die zwischen Wasserstoffexponenten (p_H) 5,5 bis 4,0 liegenden Röhrchen waren schon nach zwei- bis dreimaliger, die niedrigeren nach einmaliger Filtration wasserklar. Entgegengesetztes Verhalten beobachteten wir bei den alkalischen Serien. Nämlich die bis $p_H = 10,5$ liegenden Röhrchen waren leicht, die höheren schwerer zu filtrieren.

Das Resultat unserer Versuche geben wir in nachstehenden Tabellen. Bei jeder Tabelle ist oben die Menge des Gesamteiweißes und die Konzentration der zugesetzten Säure bzw. Lauge ersichtlich. *Die erste* Kolumne enthält die Reihenfolge der Röhrchen, *die zweite* die Menge der zugesetzten Säure bzw. Lauge in Kubikzentimetern, *die dritte* die elektrometrisch bestimmte p_H, *die vierte* die entsprechende $C_H\cdot$, *die fünfte* das in der Lösung gebliebene Eiweiß in prozentischer Konzentration. In der sechsten und siebenten Kolumne befindliche Zahlen können für die Wirkung der Salze bei variierter $C_H\cdot$ als maßgebend betrachtet werden. Die Zahlen der *sechsten* Kolumne wurden folgendermaßen ausgerechnet. Die in der ersten Eprouvette gefundene gelöste Eiweißmenge wurde als Einheit betrachtet und mit dieser als höchsten Gemeindividenten die in den übrigen Gliedern der Serie gelösten Eiweißmengen dividiert. Diesen Quotienten wollen wir die *negative Flockungszahl* (— FZ.) — der entsprechenden Salze und p_H — nennen. In der *letzten* Kolumne wurde entgegengesetzt die zum erstenmal ausgeschiedene Eiweißmenge als Einheit angenommen und mit derselben die bei verschiedenen p_H ausgefällten Eiweißmengen dividiert; dies ergibt also die *positive Flockungszahl* (+ FZ.) des Salzes bei variiertem p_H. Deshalb wurde eben die letztere als positiv betrachtet, weil wir die Flockungskraft der Salze bei verschiedenem p_H gesucht haben.

I. Teil. Fällung mit 22,2proz. Na_2SO_4-Lösung.

Aus Tabelle I ist ersichtlich, daß bis zum sechsten Röhrchen, also bis p_H 4,87, die ausgeschiedene Eiweißmenge etwas abnimmt im

[1]) *J. Mosonyi*, Zeitschr. f. klin. Med. **99**, 500.

Gegensatz zu der in Lösung gebliebenen, welche ein wenig zunimmt. p_H 4,87 ist ein Wendepunkt, von dem das ausgeschiedene Eiweiß langsam, vom zehnten (p_H 3,86) rasch zunimmt, und bei p_H 2,70 ist keine Spur in der Lösung geblieben. Das 22,2proz. Na_2SO_4 scheidet nach *Howe* und *Musa* das Globulin aus dem nativen Serum quantitativ aus, das Albumin also aber erst über seinen isoelektrischen Punkt. Besonders auffallend ist, daß die Salzwirkung in der Nähe des isoelektrischen Punktes (Globulin p_H 5,6; Albumin p_H 4,7 bis 4,8) der Serumeiweißstoffe, also wo die Ionisation das Minimum erreicht, am kleinsten ist, obgleich die Labilität der Kolloide hier die höchste ist. Es scheint also, daß *ein strenger Zusammenhang besteht zwischen der Ionisation und der Fällungskraft der Salze.* Aus der Tabelle ist weiter ersichtlich, daß die Wirkung des Na_2SO_4 an der Alkaliseite des isoelektrischen Punktes klein ist, an der sauren Seite aber rasch steigt. Es kann als die Wirkung des SO_4'' erklärt werden. Ohne Zweifel ist mit Rücksicht auf die Ausflockung mit Na_2SO_4 das zweiwertige SO_4'' wichtig, das $Na^{\cdot}$ an und für sich hat weniger Bedeutung. Es ist bekannt, daß die physiologischen Eigenschaften der Eiweißkörper in alkalischen Lösungen eher die Kationen, in sauren eher die Anionen beeinflussen. Das SO_4'' hat also im sauren Medium einen größeren Flockungswert als im alkalischen. Das zehnte Röhrchen (p_H 3,86) ist der zweite Wendepunkt, von wo aus die ausgeschiedene Eiweißmenge sehr rasch zunimmt.

Tabelle I.

Gesamteiweiß 6,74 Proz.

Das destillierte Wasser wurde ersetzt durch n/30, beim 14. mit n/10 HCl.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
1	—	7,40	$3{,}981 \cdot 10^{-8}$	4,78	1	1
2	0,2	7,10	$7{,}943 \cdot 10^{-8}$	5,04	1,05	0,87
3	0,4	6,72	$1{,}906 \cdot 10^{-7}$	4,89	1,02	0,94
4	0,6	6,23	$5{,}888 \cdot 10^{-7}$	4,83	1,01	0,98
5	1,0	5,47	$3{,}388 \cdot 10^{-6}$	4,74	1,00	1,02
6	1,4	4,87	$1{,}349 \cdot 10^{-5}$	4,85	1,01	0,96
7	1,8	4,47	$3{,}388 \cdot 10^{-5}$	4,15	0,87	1,32
8	2,0	4,16	$6{,}918 \cdot 10^{-5}$	3,76	0,79	1,52
9	2,2	3,96	$1{,}096 \cdot 10^{-4}$	3,35	0,70	1,73
10	2,4	3,86	$1{,}380 \cdot 10^{-4}$	3,05	0,64	1,88
11	2,6	3,73	$1{,}862 \cdot 10^{-4}$	1,95	0,41	2,44
12	2,8	3,59	$2{,}570 \cdot 10^{-4}$	1,36	0,29	2,75
13	3,0	3,46	$3{,}467 \cdot 10^{-4}$	1,03	0,22	2,91
14	1,2	2,70	$1{,}995 \cdot 10^{-3}$	—	—	3,44

Es ist kein bedeutender Unterschied zwischen Tabelle II und Tabelle I. Es fällt höchstens auf, daß das Na_2SO_4 in letzterem Falle schon bei höherer p_H das Gesamteiweiß ausgefällt hat. Dessen Grund

können wir außer der Schwefelsäure in der niederen Eiweißkonzentration suchen. Wir haben nämlich bei allen unseren Untersuchungen — die wir hier zwecks Raumersparnis nicht mitteilen — die allgemeine Regelmäßigkeit beobachtet, daß bei niedrigem Gesamteiweißgehalt die Zunahme bzw. die Abnahme der C_H wirksamer ist.

Tabelle II.

Gesamteiweiß 4,39 Proz.

Das destillierte Wasser wurde ersetzt durch n/30 H_2SO_4.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
1	—	7,50	$3,162 . 10^{-8}$	2,86	1	1
2	0,2	7,02	$9,550 . 10^{-8}$	3,35	1,17	0,68
3	0,4	6,63	$2,344 . 10^{-7}$	3,24	1,13	0,75
4	0,6	6,25	$5,623 . 10^{-7}$	3,15	1,10	0,81
5	0,8	5,94	$1,148 . 10^{-6}$	3,15	1,10	0,81
6	1,0	5,49	$3,236 . 10^{-6}$	3,15	1,10	0,81
7	1,2	5,24	$5,754 . 10^{-6}$	3,11	1,09	0,84
8	1,4	4,80	$1,585 . 10^{-5}$	2,94	1,03	0,95
9	1,6	4,43	$3,715 . 10^{-5}$	2,77	0,97	1,04
10	1,8	4,21	$6,166 . 10^{-5}$	2,52	0,88	1,22
11	2,0	4,09	$6,457 . 10^{-5}$	1,99	0,70	1,57
12	2,2	3,88	$1,318 . 10^{-4}$	1,63	0,58	1,87
13	2,4	3,68	$2,089 . 10^{-4}$	1,04	0,36	2,20
14	2,6	3,53	$2,951 . 10^{-4}$	0,42	0,15	2,56
15	2,8	3,39	$4,074 . 10^{-4}$	—	—	2,87

In der alkalischen Serie von p_H 7,51 aufwärts nimmt anfangs die Menge des gefällten Eiweißes bis p_H 9,33 zu, von hier aus folgt eine rasche Abnahme bis p_H 10,05. Die Fällungskraft über p_H 10,05 steigt wieder, aber erreicht die Werte der sauren Serien nicht. Das SO_4'' wirkt also im alkalischen Medium nicht so intensiv als im sauren. Die in der Nähe von p_H 10 beobachtete starke Erniedrigung der Fällungskraft haben wir selbst zuerst als Fehler betrachtet, doch bei dreimaliger Wiederholung war das Resultat dasselbe.

Tabelle III.

Gesamteiweiß 6,11 Proz.

Das destillierte Wasser wurde ersetzt durch n/30 NaOH.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
1	—	7,51	$3,091 . 10^{-8}$	3,81	1	1
2	0,4	8,24	$5,754 . 10^{-9}$	3,64	0,96	1,07
3	0,8	9,33	$4,677 . 10^{-10}$	3,49	0,92	1,14
4	1,2	9,65	$2,238 . 10^{-10}$	3,87	1,02	0,97
5	1,6	10,05	$8,912 . 10^{-11}$	3,81	1,00	1,00
6	2,0	10,25	$5,623 . 10^{-11}$	3,76	0,99	1,02
7	2,4	10,55	$2,818 . 10^{-11}$	3,73	0,98	1,04
8	2,8	10,80	$1,585 . 10^{-11}$	3,44	0,90	1,16

Tabelle IV.

Gesamteiweiß 6,03 Proz.

Das destillierte Wasser wurde ersetzt durch n/20 $Ca(OH)_2$.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
1	—	7,38	$4,169 . 10^{-8}$	3,12	1	1
2	0,4	8,32	$4,786 . 10^{-9}$	3,11	1	1
3	0,8	8,98	$1,047 . 10^{-9}$	3,07	0,98	1,02
4	1,0	9,40	$3,981 . 10^{-10}$	2,87	0,92	1,09
5	1,2	9,92	$1,202 . 10^{-10}$	3,20	1,03	0,97
6	1,4	10,21	$6,166 . 10^{-11}$	2,96	0,95	1,06
7	1,8	10,57	$2,692 . 10^{-11}$	2,60	0,83	1,18
8	2,2	10,82	$1,514 . 10^{-11}$	2,37	0,76	1,26

Die mit $Ca(OH)_2$ erreichten Resultate stimmen mit den in Tabelle III angegebenen vollständig überein, nur am Ende der Serie ist eine minimale Abweichung, wo die Salzwirkung stärker zur Geltung kommt bei demselben p_H, wie in der vorigen Serie. Wir muten dies der Wirkung des zweiwertigen Kations zu.

II. Teil. Fällung mit gesättigter NaCl-Lösung.

Tabelle V.

Gesamteiweiß 6,21 Proz.

Das destillierte Wasser wurde ersetzt durch n/30 HCl.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
1	—	7,45	$3,548 . 10^{-8}$	6,21	1	—
2	0,2	—	—	6,21	1	—
3	0,4	—	—	6,21	1	—
4	0,6	—	—	6,21	1	—
5	0,8	6,12	$7,586 . 10^{-7}$	5,88	0,95	1
6	1,0	5,52	$3,020 . 10^{-6}$	5,82	0,94	1,18
7	1,2	5,35	$4,467 . 10^{-6}$	5,30	0,85	2,76
8	1,4	5,14	$7,244 . 10^{-6}$	5,30	0,85	2,76
9	1,6	4,83	$1,479 . 10^{-5}$	4,24	0,68	5,97
10	1,8	4,62	$2,398 . 10^{-5}$	3,47	0,56	8,30
11	2,0	4,42	$3,802 . 10^{-5}$	2,51	0,40	11,21
12	2,2	4,09	$6,457 . 10^{-5}$	1,82	0,29	13,30
13	2,4	3,80	$1,585 . 10^{-4}$	0,87	0,14	16,18
14	2,6	3,60	$2,512 . 10^{-4}$	0,22	0,04	18,15
15	2,8	3,46	$3,467 . 10^{-4}$	—	—	18,82

Mit gesättigter NaCl-Lösung erzielten wir im Serum nur vom fünften Röhrchen aufwärts eine Fällung (in den ersten drei Gliedern des angesäuerten Serums hat sich nur eine schwache Opaleszenz gezeigt, welche durch Filtration nicht geklärt werden konnte). Filtrierbare Trübung erhielten wir zuerst in der fünften Eprouvette. Die Menge des gefällten Eiweißes nimmt bis p_H 4,42 langsam, von da an rasch zu, und bei p_H 3,46, ähnlich dem Sulfat, waren die Röhrchen ganz eiweißfrei. Dasselbe Resultat erreichten wir in dem mit HNO_3 an-

gesäuerten Serum. Daß bei p_H 7,45 trotz voller Sättigung sich kein Bodensatz bildete, schreiben wir der übergroßen Verdünnung zu. Die als Wendepunkt vorliegende p_H 6,12 ist in der Nähe des isoelektrischen Punktes des Globulins. *Aus stark verdünntem Serum scheidet das NaCl nur in der Nähe des isoelektrischen Punktes Eiweiß aus.* Die Wirkung des NaCl ist in saurer Verdünnung sehr ausgesprochen, so daß bei p_H 3,46 sämtliches Eiweiß ausfällt. Ähnlich dem Sulfat finden wir einen zweiten Wendepunkt bei p_H 4,42.

Tabelle VI.

Gesamteiweiß 5,19 Proz.

Das destillierte Wasser wurde ersetzt durch n/10 NaOH.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
1	—	7,42	$3{,}802 \cdot 10^{-8}$	5,19	1	—
2	0,3	—	—	5,19	1	—
3	0,6	—	—	5,19	1	—
4	0,9	—	—	5,19	1	—
5	1,2	11,18	$6{,}607 \cdot 10^{-12}$	4,98	0,96	1
6	1,5	11,39	$4{,}074 \cdot 10^{-12}$	4,56	0,88	3,00
7	1,8	11,52	$3{,}020 \cdot 10^{-12}$	4,15	0,80	4,95
8	2,1	11,61	$2{,}455 \cdot 10^{-12}$	5,13	0,98	0,29
9	2,4	11,72	$1{,}906 \cdot 10^{-12}$	—	—	—
10	2,7	11,80	$1{,}585 \cdot 10^{-12}$	4,04	0,78	5,48
11	3,0	11,90	$1{,}259 \cdot 10^{-12}$	3,98	0,77	5,76

Die Tabelle VI zeigt, daß wir mit gesättigter NaCl-Lösung bis p_H 11,18 keine filtrierbare Trübung erhielten (in dem dritten und vierten Röhrchen hat sich eine schwache Opaleszenz gezeigt). Von p_H 11,18 bis p_H 11,52 steigt, beim p_H 11,61 sinkt steil die Fällungskraft (ähnliches Verhalten beobachteten wir bei der Sulfatfällung). Bei stärkerer Laugenkonzentration wird immer mehr Eiweiß ausgeschieden, ohne die im sauren Medium erhaltenen Werte zu erreichen. Diese Serie wurde statt NaOH mit KOH mit demselben Erfolg wiederholt.

Die Tabellen zeigen deutlich, daß *bei verschiedenen $C_{H^{\cdot}}$ keine Umwandlung der Serumeiweißfraktionen besteht, sondern daß die Fällungskraft der Salze sich ändert*; bei gewissen $C_{H^{\cdot}}$ steigt dieselbe, bei anderen sinkt sie. *Die Salzwirkung ist also eine strenge Funktion der Wasserstoffionenkonzentration.* Das ist ein neuer Beweis dafür, daß die Salzflockung nicht einfach auf Wasserentziehung zurückzuführen ist, sondern daß zwischen Eiweißionen und Salzen eine bestimmte chemische Reaktion zu bestehen scheint. Wäre die Salzflockung nur eine Folge der Wasserentziehung, so müßten wir die Maximalwirkung bei dem isoelektrischen Punkte erhalten, weil die Affinität der Eiweißkörper zu Wasser hier

am niedrigsten ist. Am isoelektrischen Punkte treten die Eiweißkörper — wie wir das aus Untersuchungen verschiedener Autoren, besonders *J. Loeb*[1]) wissen — in keine Reaktion mit Säuren, Laugen oder Salzen. Unsere Resultate beweisen ebenfalls, daß *die Salzflockung am geringsten ist zwischen den normalen* $C_{H^{\cdot}}$*-Werten und dem isoelektrischen Punkte.* Sind die Werte niedriger oder höher als die erwähnten, so steigt auch die Salzwirkung ähnlich wie die Ionisation.

Mit Rücksicht darauf, daß die Versuche mit reinen Albumin- und Globulinlösungen fortgesetzt werden, bleiben die theoretischen Besprechungen für den zweiten Teil dieser Arbeit. Aus den hier mitgeteilten Ergebnissen möchten wir nur drei Umstände hervorheben: 1. *Zwischen der Wirkung der Salze und der* $C_{H^{\cdot}}$ *besteht bald ein Synergismus* (so die Säure bzw. Lauge wie auch die Salze trachten, das Eiweiß auszufällen), *bald ein auffallender Antagonismus* (die Säure bzw. die Lauge trachtet die Eiweißlösung zu stabilisieren), was von der jeweiligen $C_{H^{\cdot}}$ abhängig ist. 2. *Dieser Antagonismus besteht auch an dem isoelektrischen Punkte.* 3. *Die Salze fällen die Eiweißkörper* nicht nur aus neutralen oder sauren, sondern *auch aus alkalischen Lösungen* (obgleich aus den letzteren viel schwächer). Die mindere Fällungskraft bei alkalischer Reaktion können wir teilweise daraus erklären, daß die Anionen — besonders das SO_4'' —, die bei der Fällung eine wichtige Rolle spielen, in alkalischen Lösungen nicht so zur Geltung kommen wie in sauren; andererseits, daß sowohl das Albumin wie auch das Globulin eher sauren als basischen Charakter haben, und so die mit den Alkalien gebildeten Salze stabiler sind als die mit Säuren gebildeten.

Zusammenfassung.

Wir haben die Flockungskraft der Na_2SO_4- und NaCl-Lösungen bei verschiedenen $C_{H^{\cdot}}$ untersucht. Als Ergebnis unserer Versuche fanden wir, daß die Flockungskraft der Salze eine strenge Funktion der $C_{H^{\cdot}}$ ist; dieselbe ist am geringsten zwischen p_H 7,40 und dem isoelektrischen Punkte, bei höheren oder niedrigeren p_H steigt dieselbe.

[1]) *J. Loeb*, Proteins and the theory of colloidal behavior. New York 1922.

Blutzuckerkurven nach intravenöser Einspritzung von α-, β-, und α, β-Glucose beim Kaninchen.

Von

F. Lipmann (Königsberg) und **J. Planelles** (Madrid).

(Aus dem pharmaco-therapeutischen Laboratorium der Universität Amsterdam.)

(Eingegangen am 28. Juli 1924.)

Thannhauser und *Jenke*[1]) verfolgten die Blutzuckerkurve am gesunden und diabetischen Menschen nach Injektion von β- und α, β-Glucose und glaubten aus ihren Ergebnissen auf einen Minderverbrauch der β-Glucose schließen zu dürfen oder, was dasselbe bedeutet, auf eine Bevorzugung der α-Glucose im Stoffwechsel. Dies fand auch *Laquer*[2]) in kürzlich veröffentlichten Versuchen, als er aus uns hier nicht näher interessierenden Gründen die milchsäurebildende Kraft von α-, α, β- und β-Glucose bei Zusatz zum Froschmuskelbrei untersuchte. Die α-Form wirkte stärker als α, β-, viel stärker als β-Glucose. Diese beiden Ergebnisse schienen für eine Vorzugsstellung der α-Glucose zu sprechen und, um diese für den KH-Stoffwechsel so wichtige Frage einer genaueren Nachprüfung zu unterziehen, stellten wir ähnliche Versuche wie *Thannhauser* an und dehnten sie auch auf Untersuchungen des Blutzuckeranstiegs nach Injektion von α-Glucose aus. Als Versuchsobjekt gebrauchten wir das Kaninchen.

Zu den Versuchen mit α-Glucose wurde reinste Glucose möglichst schnell aufgelöst und sofort injiziert. Die β-Glucose stellten wir nach der Vorschrift von *Behrendt*[3]) durch Umkristallisieren aus Pyridin her, lösten ebenfalls schnell und injizierten sofort. Die verschiedenen Glucoseformen wurden stets polarimetrisch kontrolliert. Es wurden jedesmal 20 ccm innerhalb 15 Minuten injiziert. Es wurde für peinlichste Sterilität Sorge getragen.

Die Blutzuckerbestimmungen wurden nach der *Hagedorn-Jensen*schen[4]) Methode vorgenommen. Diese Methode wurde zusammen mit

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1924, Nr. 7.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 1924 (im Druck).
[3]) Ann. d. Chem. **353**, 106.
[4]) Diese Zeitschr. **135**, 45, 1923.

Fräulein Dr. chem. *Dingemanse* einer eingehenden Prüfung unterzogen. Sie stellte sich als sehr brauchbar heraus und in mancher Beziehung der *Bang*schen überlegen. Von einer genau hergestellten 1 prom. Glucoselösung fanden wir nach dieser Methode 0,100, 0,106, 0,105, 0,106, 0,101 in genügender Übereinstimmung wieder und können somit die *Hagedorn-Jensen*schen Angaben über die Zuverlässigkeit der Methode bestätigen.

Wir veranschlagen die Fehlergrenze auf 6 bis 7 Proz. im Durchschnitt.

Daß die Doppelbestimmungen zuweilen größere Differenzen zeigen, glauben wir dem Umstand zuschreiben zu dürfen, daß bei den in sehr kurzen Abständen erfolgenden Doppelentnahmen sich mitunter kleinere Wägefehler nicht vermeiden ließen. Da, besonders in den ersten Minuten nach der Injektion, die Blutzuckerwerte sich sehr schnell ändern, verfuhren wir so, daß wir zu den jedesmal ausgeführten Doppelbestimmungen das Blut nicht nacheinander mit den beiden Löschpapierblättchen aufsogen, sondern abwechselnd auf das eine und andere einen Tropfen fallen ließen.

Die Kaninchen waren vom Vorabend her nüchtern. Die Glucose wurde in 7 proz. Auflösung (physiologische Kochsalzlösung) in die Ohrvene mit einer Rekordspritze injiziert.

Aus technischen Gründen war es nicht immer möglich, einen Versuchszyklus an demselben Kaninchen zu vollenden. Auch wegen der großen Labilität des Blutzuckerspiegels am Kaninchen scheinen uns die aus den verschiedenen Kurven der jeweils injizierten Glucose berechneten Mittelwerte zur Beurteilung der Resultate geeigneter zu sein. Wir geben hier eine kurze Zusammenstellung der so erhaltenen Zahlen. Die genauen Versuchsprotokolle finden sich im Anhang. Im Vorversuch konnten wir feststellen, daß die am unbehandelten Kaninchen innerhalb einer Stunde in kurzen Abständen abgenommenen Blutzuckerwerte um etwa 20 Proz. schwanken. Dieselben Resultate erhielten wir auch bei Injektion von reiner physiologischer Kochsalzlösung.

Mittlere Zunahme der Blutzuckerwerte nach Injektion von *α-, α, β-, β*-Glucose.

	Zahl der Versuche	Zahl der Kaninchen	Anfangswerte	Nach Minuten								
				7	15	20	25	30	40	50	60	90
α-Glucose	2	2	0,117	69	73	73	73	45	28	4	—	—
β- „	3	2	0,098	68	92	82	66	52	32	8	—	—
α, β- „	4	4	0,112	88	173	173	184	128	83	58	38	—
Kanin. 39 niedrigste Kurve für α, β-Glucose				50	130	114	67	82	52	30	10	0

Aus der Tabelle geht folgendes hervor, wenn man aus der beschränkten Zahl von Versuchen überhaupt Schlüsse ziehen will.

1. Es besteht kein Unterschied hinsichtlich des Grades wie der Dauer der Blutzuckersteigerung nach Einspritzung von α- wie der von β-Glucose. Denn die Mittelwerte für die β-Form liegen zwar etwas über denen für die α-Form, jedoch sind die Unterschiede zu gering im Vergleich zu den Differenzen bei Versuchen mit derselben Form.

2. Dagegen ist auffallend, daß sowohl höhere Steigerung als auch eine gewisse Verlängerung der Dauer nach Einspritzungen der gewöhnlichen, der Gleichgewichtsglucose stattfand.

Absichtlich haben wir bei der Tabelle außer dem Gesamtresultat von den vier Versuchen mit Gleichgewichtsglucose auch noch das Ergebnis des Versuchs, der die niedrigste Steigerung ergab, besonders wiedergegeben. Man sieht daraus, daß auch dieser Versuch mit der geringsten Steigerung noch zeigt, daß sie größer war als bei den α- bzw. β-Versuchen.

Ob es sich wirklich um essentielle Unterschiede handelt, wagen wir noch nicht zu behaupten. Wir wollen hinzufügen, daß wir bei der frisch hergestellten Lösung der gewöhnlichen Glucose die Gleichgewichtseinstellung durch Zusatz minimaler Mengen Ammoniaks (etwa 0,01 Proz. in der injizierten Lösung) zu beschleunigen suchten, glauben aber nicht, daß diese minimalen Zusätze irgendwelchen Einfluß auf den Stoffwechsel gehabt haben können.

Sicherlich können wir diese Ergebnisse nicht ohne weiteres mit den von *Thannhauser* am Menschen gemachten Erfahrungen vergleichen, jedoch auch keinen grundsätzlichen Unterschied herauslesen, weil uns die Versuche von *Thannhauser* noch nicht beweisend dafür scheinen, daß wirklich die α-Glucose so viel schneller als die β-Glucose aus dem Blute verschwindet. Dazu scheinen uns die von ihm gefundenen Differenzen zu wenig die Fehlergrenzen zu überschreiten.

Anhang.

Tabelle I. Mittelwerte der Blutzuckerbestimmung ohne Injektion und nach Injektion von 20 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung.

Zeit	Ohne Injektion		Nach Kochsalzinjektion
	I.	II.	
0′	0,125	0,117	0,097
10	0,100	0,104	0,103
20	0,124	0,110	0,108
30	0,106	0,099	0,112
40	0,108	0,098	0,109
50	0,102	0,090	0,096
60	0,092	—	0,081

Tabelle II.

Mittelwerte der Blutzuckerbestimmung nach Injektion von α-Glucose.

Zeit nach Injektion	Nr. 39	Nr. 7
0'	0,112	0,116
7	0,148	0,225
15	0,145	0,235
20	0,175	0,210
25	0,168	0,212
30	0,157	0,182
35	0,146	0,170
40	0,157	0,163
45	0,119	—
55	0,102	0,140
65	0,115	0,106
75	0,097	—

Tabelle III.

Mittelwerte der Blutzuckerbestimmungen nach Injektion von α, β-Glucose.

Zeit	Nr. 7	Nr. 50	Nr. 49	Nr. 39
0'	0,120	0,109	0,104	0,102
7	0,240	0,248	0,208	0,152
15	0,350	0,259	0,334	0,232
20	0,347	—	—	0,216
25	0,336	0,236	—	0,169
30	0,303	—	0,278	0,184
35	0,296	—	—	0,154
40	0,244	0,237	0,193	0,132
45	0,236	—	—	0,112
55	0,220	0,188	0,153	0,115
65	0,179	—	—	0,099
75	0,173	0,187	—	—
90	—	—	0,131	—
4 Std.	0,098	0,103	—	—

Tabelle IV.

Mittelwerte der Blutzuckerbestimmungen nach Injektion von β-Glucose.

Zeit	Nr. 39	Nr. 39	Nr. 157
0'	0,123	0,067	0,081
7	0,196	0,133	0,170
15	0,192	0,167	0,215
20	0,181	0,151	—
25	0,145	0,153	0,183
30	0,119	0,139	0,176
35	0,125	0,122	0,158
40	0,118	0,118	0,133
45	0,110	0,105	0,122
55	0,082	0,088	0,119
65	0,093	0,098	0,106
75	—	0,088	0,083
85	—	0,087	—
95	—	0,065	—

Über die Beeinflussung der Hitzekoagulation des Pflanzenplasmas durch die Salze der Erdalkalien. VI.

Von

Hugo Kaho (Kahho).

(Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium des botanischen Instituts der Universität Dorpat, Estland.)

(Eingegangen am 28. Juli 1924.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Beobachtet man eine plasmolysierte anthocyanführende Pflanzenzelle bei einer steten Erhöhung der Temperatur der plasmolysierenden Flüssigkeit, so sieht man, daß bei einer ganz bestimmten Temperatur, die bei verschiedenen Salzen verschieden ist, der Plasmaschlauch seine semipermeablen Eigenschaften einbüßt und zusammenschrumpft. Dieser Vorgang, den man als Hitzekoagulation[1]) (Hitzegerinnung) bezeichnet hat, ist immer mit dem Zelltod verbunden, doch ist es kaum möglich, bei der Erhöhung des Hitzekoagulationspunktes der Plasmamembran in Lösungen gewisser Salze über die Erhöhung der Hitzeresistenz der pflanzlichen Zelle zu sprechen. Die sogenannte Hitzekoagulation des Plasmas bei allen solchen Versuchen ist das letzte Glied in der Kette der Erscheinungen, die den komplizierten Vorgang — den Hitzetod der Zelle — zusammensetzen, und wenn im Bereiche der Temperaturgrenzen von 65 bis 70° das Zusammenschrumpfen des Plasmaschlauches in gewissen Fällen nur um ein paar Grade höher stattfindet, so ist kein Grund anzunehmen, daß der eigentliche Zelltod in diesen Fällen bei so viel höherer Temperatur vor sich geht. Anders ist die Sache natürlich dann, wenn beträchtliche Temperaturunterschiede bei der Plasmakoagulation vorkommen. Vor allen Dingen ist hier der Umstand wichtig, daß bei diesen Versuchen sehr deutlich der Einfluß der Salze auf die Plasmamembran zutage tritt, und es ist möglich festzustellen, inwiefern die Salze den kolloiden Zustand der Oberflächenkolloide

[1]) Vgl. *W. Lepeschkin*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **28**, 99, 1910; *H. Kahho*, diese Zeitschr. **117**, 87, 1921; **144**, 104, 1924.

verändern. Hieraus ergibt sich ferner die Möglichkeit, die Beeinflussung der Permeabilität des Plasmas durch Salze mit der Kolloidaktivität der letzteren in Zusammenhang zu bringen und ein tieferes Verständnis für die von Elektrolyten bedingten Permeabilitätserscheinungen zu gewinnen. Es hat sich gezeigt, daß bei hoher Temperatur gewisse Alkalisalze, die quellungsfördernd wirken, wie Rhodanide, Jodide, Bromide und andere den Plasmaschlauch sehr leicht zum Platzen und zur Schrumpfung bringen, wobei das Salz in abnormen Mengen in die Vakuole eindringt und der plasmolysierte Protoplast stark anschwillt. Die Versuche mit anderen Methoden haben gezeigt, daß gerade diese Salze ein großes Eindringungsvermögen besitzen.

Dagegen bewirken quellungshemmende Alkalisalze, wie Acetate, Tartrate, Sulfate und andere eine verhältnismäßig höhere Koagulationstemperatur, wobei der Protoplast bei der Erwärmung relativ wenig Salzlösungen aufnimmt und in den meisten Fällen ein ausgesprochenes Platzen des Plasmaschlauches ausbleibt. Andererseits zeigen die Versuche, daß diese Salze ein geringes Eindringungsvermögen besitzen.

Aus dem Gesagten ist ersichtlich, daß erstens die sogenannte Hitzekoagulation (-gerinnung) des Pflanzenplasmas in Salzlösungen eher ein komplizierter physiologischer, als ein rein kolloidchemischer Vorgang ist. Wir wollen im weiteren diese Benennung doch beibehalten und darunter eine irreversible Schrumpfung (mit oder ohne vorangegangenes Platzen des Plasmaschlauches) des Protoplastes bei hoher Temperatur bei Anwesenheit gewisser Agenzien verstehen.

Zweitens, *daß in den Salzlösungen zwischen der Hitzekoagulationstemperatur (K.-T.) des Plasmas und dem Eindringungsvermögen der Salze ein gewisser Zusammenhang besteht, der sich darin äußert, daß die gut eindringenden Salze eine relativ niedrigere K.-T. bewirken und umgekehrt.*

Im folgenden soll über die Beeinflussung der Hitzekoagulation des Plasmas durch die Salze der Erdalkalien mitgeteilt werden. Da die Kolloidaktivität der Salze von der Wertigkeit der Ionen abhängig ist, so fragt es sich, inwiefern die Anionen der Erdalkalien bei der Hitzekoagulation von Bedeutung sind, denn das Pflanzenplasma ist ein negatives Kolloid und bei den Salzwirkungen müßte hier den zweiwertigen Kationen eine dominierende Rolle zuerteilt werden.

Die Versuche wurden in derselben Weise angestellt, wie es in den vorhergehenden Mitteilungen beschrieben worden ist[1]). Als Objekt

[1]) *H. Kahho,* l. c. Ein kleines parallelwandiges Glasgefäß, den Schnitt mit der betreffenden Salzlösung und das Thermometer enthaltend, tauchte in ein Wasserbad, in welchem das Wasser bis zur bestimmten Temperatur erwärmt wurde. Die Beobachtungen wurden mit einem Horizontalmikroskop ausgeführt.

benutzte ich hauptsächlich die Kronblätter von Viola tricolor, einer samtschwarzen Gartenform. Die Schnitte wurden von der Oberseite der Kronblätter hergestellt. Ausnahmsweise wurden einige Versuchsserien auch mit den Schnitten von Zebrina pendula ausgeführt. Letztere wurden von der Mittelrippe der Blattunterseite genommen. Es wurden gewichtsnormale Lösungen angewandt (Salze *Kahlbaum*). In den Tabellen bedeutet K.-T. I die Temperatur, bei welcher die Plasmakoagulation soeben beginnt, K.-T. II, wenn sie massenhaft vor sich geht.

Tabelle I.

Koagulationstemperatur in °C.

Konzentration der Lösungen 1,0 Mol. Viola.

Lösung	1. Serie			2. Serie			3. Serie		
	K.-T. I	K.-T. II	Mittel	K.-T. I	K.-T. II	Mittel	K.-T. I	K.-T. II	Mittel
$Ca(CNS)_2$	35,0	45,2	40,1	37,8	43,2	40,5	37,0	45,0	41.0
$Ca(NO_3)_2$	50,5	53,0	51,7	52,0	54,5	53,2	49,5	53,8	51.6
$CaBr_2$	53,0	56,0	54,5	53,0	55,7	54,3	53,8	56,5	55,1
$CaCl_2$	61,0	63,2	62,1	57,0	60,0	58,5	57,0	60,0	58.5
$Ca(C_2H_3O_2)_2$	61,8	64,0	62,9	58,8	63,8	61,3	60,7	64,0	62,3

Lösung	4. Serie			5. Serie			6. Serie		Durchschnittszahl f. alle Serien
	K.-T. I	K.-T. II	Mittel	K.-T. I	K.-T. II	Mittel	K.-T. I	K.-T. II	
$Ca(CNS)_2$	35,0	41,3	38,1	39,8	45,0	42,4	35,0	43,5	40,2
$Ca(NO_3)_2$	51,3	53,5	52,4	52,0	54,0	53,0	52,0	54,0	52,5
$CaBr_2$	51,8	54,6	53,2	51,5	53,5	52,5	—	—	53,7
$CaCl_2$	57,0	61,0	59,0	58,0	61,5	59,7	59,0	62,5	59,7
$Ca(C_2H_3O_2)_2$	58,0	62,0	60,0	60,0	64,0	62,0	59,0	62,0	61,5

Alle Zellen zeigen in den Lösungen 1,0 Mol eine ziemlich starke Plasmolyse. Das Rhodanid bewirkt die Plasmakoagulation bei relativ niedrigen Temperaturen; schon bald nach dem Einlegen des Schnittes in die Lösung koagulieren hier und da an den Rändern einzelne Zellen. Auch in der Lösung von Acetat[1]) waren bei einigen Schnitten an den Rändern wenige koagulierte Zellen zu bemerken. Im ganzen geht die Hitzekoagulation in Acetatlösung etwas träger vor sich als in anderen Salzlösungen.

Die Ergebnisse der Versuche (Tabelle I) zeigen uns, daß bei den Calciumsalzen die Wirkung der Anionen wider Erwarten sehr deutlich ausgeprägt ist und nicht weniger hervortritt als bei den betreffenden

[1]) Die alkalische Reaktion dieses Salzes wurde mit ein paar Tropfen Essigsäure neutralisiert.

Alkalisalzen. Die Energie der Ca-Salze, die K.-T. des Plasmas zu beeinflussen, nimmt nach der Reihenfolge $CNS > NO_3 > Br > Cl > C_2H_3O_2$ ab, also nach der bekannten lyotropen Anionenreihe.

Bisher ist bekannt geworden, daß bei den physiologischen Wirkungen der Alkalisalze die lyotropen Einflüsse eine hervorragende Rolle spielen, *daß aber dieselben Einflüsse bei der Wirkung der Erdalkalien so deutlich hervortreten, ist ganz neu*, und diese Tatsache führt uns dem Verständnis für die physiologischen Wirkungen der Salze näher.

Die Wirkungsunterschiede der Anionen sind bei den Ca-Salzen ebenso wie bei Alkalisalzen bei höheren Konzentrationen der Lösungen größer, weshalb auch mit verhältnismäßig hohen Konzentrationen (1,0 Mol) experimentiert wurde. Bei schwächeren Konzentrationen sind diese Wirkungsunterschiede zwar kleiner, treten aber nicht weniger deutlich wie bei den Alkalisalzen hervor. Es seien hier einige Versuchsreihen mit schwächeren Lösungen der Ca-Salze angeführt.

Tabelle II.

Koagulationstemperatur in °C.

Nr.	$Ca(CNS)_2$			$CaBr_2$			$Ca(NO_3)_2$			$CaCl_2$		
	K.-T. I	K.-T. II	Mittel	K.-T. I	K.-T. II	Mittel	K.-T. I	K.-T. II	Mittel	K.-T. I	K.-T. II	Mittel
	Konzentration der Lösungen 0,2 Mol. Viola.											
1	52,7	55,6	54,1	54,0	57,0	55,5	56,2	58,4	57,3	58,0	60,2	59,1
2	52,0	55,5	53,7	54,3	58,0	56,1	57,0	60,2	58,6	57,5	60,0	58,7
3	51,8	54,5	53,1	55,5	57,5	56,5	56,0	58,0	57,0	60,0	62,0	61,0
4	53,3	56,0	54,6	55,6	57,8	56,7	55,8	57,8	56,8	59,0	60,0	59,5
Durchschnittszahl	53,9			56,2			57,4			59,6		
	Konzentration der Lösungen 0,4 Mol. Zebrina pendula.											
1	52,0	55,0	53,5	59,8	61,8	60,8	60,8	63,0	61,9	61,8	63,0	62,4
2	—	—	—	62,3	63,0	62,6	63,0	64,5	63,7	64,0	65,5	64,7
3	53,0	55,0	54,0	59,0	60,0	59,6	59,8	60,8	60,3	59,8	60,8	60,3
4	54,8	57,6	56,2	60,7	62,0	61,3	61,8	62,9	62,3	63,5	64,2	63,8
5	53,0	56,0	54,5	57,8	58,6	58,2	60,0	61,5	60,7	62,0	63,5	62,7
Durchschnittszahl	54,5			60,5			61,8			62,8		

Die Konzentration 0,2 Mol (Tabelle II) ist für Violazellen noch hypotonisch, sehr nahe am plasmolytischen Grenzwert liegend, so daß hier die Zellen noch keine Plasmolyse zeigen. Die Anionenreihe, nach welcher das Vermögen der Salze, die Hitzekoagulation zu begünstigen, abnimmt, ist hier folgende: $CNS > Br > NO_3 > Cl$. Sie stimmt gänzlich mit der Anionenreihe der Alkalisalze überein[1]) und ist fast

[1]) Vgl. *H. Kahho*, diese Zeitschr. **117**, 87, 1921.

dieselbe wie bei der Konzentration 1,0 Mol. Nur das Nitrat hat seine Stellung mit Bromid gewechselt, weil seine Aktivität mit der Änderung der Konzentration sich in größeren Grenzen ändert als beim Bromid. Bei Zebrina pendula sind die Unterschiede der K.-T. zwischen dem Rhodanid und der Gruppe Bromid, Nitrat, Chlorid gut ausgeprägt. Die drei letzteren Salze lassen sich nicht immer durch ihre Wirkungen unterscheiden, übrigens machen hier verhältnismäßig große Schwankungen die Resultate unsicher. Im allgemeinen ist Zebrina für die Hitzekoagulationsversuche mit Erdalkalien nicht so geeignet wie Viola.

Sehr bemerkenswert ist die Tatsache, daß bei den Ca-Salzen die Plasmakoagulationstemperatur bei der Erhöhung der Konzentration der Lösungen von den ersten Gliedern der lyotropen Reihe (Rhodanid, Bromid) mehr beeinflußt wird als von den letzteren. Ein Vergleich der in den Tabellen I und II angeführten Durchschnittszahlen zeigt uns folgendes:

Ca-Salze. Viola.

	CNS	NO_3	Br	Cl
0,2 Mol	53,9	57,4	56,2	59,6
1,0 Mol	40,2	52,5	53,7	59,7
Differenz	13,7	4,9	2,5	— 0,1

Bei dem Rhodanid ruft die Erhöhung der Konzentration von 0,2 auf 1,0 Mol eine starke Steigerung der Wirkungsenergie hervor, und die K.-T. wird hier etwa auf 13° heruntergedrückt. Bei Nitrat und Bromid wächst die Aktivität schon viel weniger, insbesondere beim letzteren. Bei Chlorid bleibt dagegen die K.-T. völlig unbeeinflußt[1]). Ungefähr dasselbe haben wir auch bei den Alkalisalzen. Bei Kaliumsalzen bewirkt eine Konzentrationssteigerung von 0,3 auf 0,8 n folgende Differenzen der Koagulationstemperatur[2]):

K-Salze. Zebrina pendula.

	CNS	J	NO_3	Cl	$C_2H_3O_2$	SO_4	Citrat
0,3 n	67,2	71,1	72,9	74,7	75,1	75,9	75,6
0,8 n	62,2	67,0	69,7	72,2	73,5	76,3	75,7
Differenz . . .	5,0	4,1	3,2	2,5	1,6	— 0,4	— 0,1

Wie man aus diesem Vergleich ersieht, beeinflussen die Alkalisalze und Erdalkalien die K.-T. in analoger Weise. Der etwaige Unterschied

[1]) Die kleine Differenz 0,1° liegt in den Grenzen des Versuchsfehlers, der unter Umständen 0,5 bis 1,0° beträgt.

[2]) Die Daten sind einer früher erschienenen Mitteilung (l. c.) entnommen. Sie sind Durchschnittszahlen aus je fünf Bestimmungen.

besteht darin, daß bei Ca-Salzen schon beim Chlorid (unter Umständen auch beim Acetat) die Konzentrationserhöhung die K.-T. unbeeinflußt läßt, bei den K-Salzen ist das nur beim Sulfat und Citrat der Fall.

Es hat sich gezeigt, daß bei den Alkalisalzen die ersten Glieder der lyotropen Reihe (CNS, J und andere) eine abnorm große Permeabilität des Plasmas bewirken, welche ungefähr direkt proportional der Quellungsförderung dieser Salze ist[1]). Damit ist auch die ungleiche Depression der K.-T. in konzentrierteren Lösungen erklärlich. Salze, die eine große Eindringungsfähigkeit haben, wie Rhodanide, Jodide und andere, gelangen aus stärkeren Lösungen in größeren Mengen in die Zelle und fördern die Koagulation. Dagegen bewirken Sulfate und andere quellungshemmende Alkalisalze eine geringe Permeabilität, und bei der Erhöhung der Konzentration wächst auch die Kolloidaktivität, also die permeabilitätvermindernde Kraft der Salze, und die Folge davon ist, daß aus stärkeren Lösungen etwa gleiche Mengen des Salzes in die Zelle eindringen wie aus den schwächeren, und die K.-T. bleibt bei der Konzentrationsänderung unbeeinflußt. Umgekehrt können wir aus der Beeinflussung der K.-T. durch die Änderung der Konzentration der Lösungen einige Schlüsse über die Eindringungsfähigkeit der Salze ziehen.

Das Gesagte hat die gleiche Kraft bezüglich der Erdalkalien. Auch hier können wir ganz analog aus der Förderung der Koagulation durch stärkere Lösungen die Eindringungsfähigkeit der Salze beurteilen. Die Koagulationsreihenfolge $CNS > NO_3 > Br > Cl$ ist bei den Ca-Salzen auch somit maßgebend für die Permeabilitätsverhältnisse, wobei das Rhodanid am stärksten und Chlorid am schwächsten in das Plasma eindringt. Gewisse Tatsachen, auf die hier nicht weiter eingegangen werden soll, lassen schließen, daß bei den Koagulationsversuchen der Unterschied der in die Zelle eingedrungenen Mengen verschiedener Calciumsalze nicht so beträchtlich ist, wie das bei den entsprechenden Alkalisalzen der Fall ist. Es genügt vermutlich, daß schon sehr kleine Mengen dieser Salze in das Plasma eindringen, um die K.-T. sehr stark herabzusetzen. Damit ist auch die Tatsache zu erklären, daß mit der plasmolytischen Methode bei gewissen Objekten, wie Rhoes discolor (*Fitting*), Lupinus albus (*Tröndle*), die Permeabilität für die Ca-Salze (insbesondere für das Chlorid) kaum nachweisbar ist.

Die anderen Salze der Erdalkalien verhalten sich den Ca-Salzen ziemlich gleich. In der Tabelle III sind die Versuche mit den Barium- und Strontiumsalzen dargestellt.

---

[1]) *H. Kahho*, diese Zeitschr. **144**, 104, 1924; vgl. ferner **123**, 284, 1921; Über die physiologische Wirkung der Neutralsalze auf das Pflanzenplasma, Acta et Com. Univers. Dorpat A V_4, 1924.

Tabelle III.

Konzentration der Lösungen 1,0 Mol. Viola.

Nr.	$Ba(CNS)_2$ K.-T. I	$Ba(CNS)_2$ K.-T. II	$Ba(CNS)_2$ Mittel	$BaBr_2$ K.-T. I	$BaBr_2$ K.-T. II	$BaBr_2$ Mittel	$BaCl_2$ K.-T. I	$BaCl_2$ K.-T. II	$BaCl_2$ Mittel
1	37,0	42,0	39,5	55,0	57,8	56,4	59,0	60,5	59,7
2	34,0	39,0	36,5	55,2	57,0	56,1	60,0	63,0	61,5
3	36,0	41,6	38,8	57,5	59,5	58,5	60,8	63,7	62,2
4	33,0	37,5	35,2	54,8	57,1	55,9	59,5	61,0	60,2
5	29,0	36,5	32,8	54,0	55,5	54,7	59,3	61,5	60,4
Durchschnittszahl	**36,5**			**56,8**			**61,6**		

Nr.	$SrBr_2$ K.-T. I	$SrBr_2$ K.-T. II	$SrBr_2$ Mittel	$Sr(NO_3)_2$ K.-K. I	$Sr(NO_3)_2$ K.-T. II	$Sr(NO_3)_2$ Mittel	$SrCl_2$ K.-T. I	$SrCl_2$ K.-T. II	$SrCl_2$ Mittel
1	53,0	54,4	53,7	54,5	57,0	55,7	58,0	61,2	59,6
2	52,2	55,0	53,6	54,5	58,0	56,2	59,0	61,5	60,2
3	50,4	55,6	53,0	54,5	57,0	55,7	59,5	61,0	60,3
4	51,5	56,5	54,0	55,0	57,0	56,0	60,5	62,5	61,5
Durchschnittszahl	**53,5**			**55,9**			**60,4**		

Wie uns die Ergebnisse der Tabelle III zeigen, beeinflussen die Ba-Salze die K.-T. nach der Reihenfolge: CNS > Br > Cl, und die Sr-Salze: Br > NO_3 > Cl. Nach dem oben Auseinandergesetzten sind diese Reihenfolgen auch für die Permeabilitätsverhältnisse betreffender Salze maßgebend.

Eine besonders niedrige Koagulationstemperatur hat das Plasma in der $Ba(CNS)_2$-Lösung. Hier koagulieren schon gleich nach dem Einlegen der Schnitte an den dünnen Stellen viele Zellen.

Wenden wir uns noch der Wirkung der Magnesiumsalze zu.

Tabelle IV.

Konzentration der Lösungen 1,0 Mol. Viola.

Lösung	1. Serie K.-T. I	1. Serie K.-T. II	1. Serie Mittel	2. Serie K.-T. I	2. Serie K.-T. II	2. Serie Mittel	3. Serie K.-T. I	3. Serie K.-T. II	3. Serie Mittel	4. Serie K.-T. I	4. Serie K.-T. II	4. Serie Mittel	Durchschnittszahl f. alle Serien
$MgBr_2$ . .	58,5	61,0	59,7	57,2	60,0	58,6	58,0	60,3	59,1	58,0	60,0	59,0	**59,1**
$Mg(NO_3)_2$.	60,5	62,0	61,2	58,5	61,4	59,9	61,5	63,0	62,2	61,2	62,8	62,0	**61,3**
$MgCl_2$ . . .	64,5	65,5	65,0	62,6	64,0	63,3	64,0	66,0	65,0	62,6	66,0	64,3	**64,4**
$Mg(C_2H_3O_2)_2$	66,0	68,0	67,0	63,0	66,0	64,5	63,0	69,0	66,0	65,0	68,0	66,5	**65,9**
$MgSO_4$ . .	60,0	63,0	61,5	60,0	64,0	62,0	62,2	64,0	63,1	62,0	64,5	63,2	**62,7**

Die Anionenwirkung nach den Daten der Tabelle IV nimmt ab nach der Reihe: Br > NO_3 > SO_4 > Cl > $C_2H_3O_2$. Die abweichende Stellung des Sulfats in der Reihe [bei den Alkalisalzen steht das Sulfat

am Ende der Reihenfolge[1])] ist durch die verhältnismäßig starke Hydrolyse dieses Salzes zu erklären. In den Versuchen gibt sich dieses durch den Umschlag der schwarzen Anthocyanfarbe ins Rote zu erkennen. Durch saure Reaktion wird die Hitzekoagulation gefördert. Die alkalische Reaktion der Acetatlösung wurde durch die Zufügung der Essigsäure abgeschwächt. Im allgemeinen geht die Hitzekoagulation in den Lösungen der Acetate der Erdalkalien relativ langsam vor sich, die Hydrolyse wirkt hier weniger störend.

Zusammenfassend kann man über die Beeinflussung der Hitzekoagulation des Plasmas durch die Erdalkalien sagen, daß hier eine Hauptbedeutung den Anionen zukommt, der Einfluß von Kationen ist lange nicht so deutlich zu erkennen.

Wie oben erwähnt, stehen das Vermögen der Alkalisalze, die Hitzekoagulation des Plasmas zu beeinflussen, sowie auch die Permeabilitätsverhältnisse dieser Salze in Zusammenhang mit der Kolloidaktivität bzw. mit der Quellungsförderung derselben. Nach der Analogie müßten wir auch bei den Erdalkalien denselben Zusammenhang voraussetzen. Um dieses zu prüfen, stellte ich einige Quellungsversuche mit gepulvertem Agar-Agar (*Kahlbaum*) an. Neuerdings hat *Walter* gefunden[2]), daß sich dieses Kohlehydrat für die Quellungsversuche nach der Volumenmethode besonders eignet. Es sei hier auf seine interessante Arbeit hingewiesen.

In ausgemessene, unten mit Gummistopfen verschlossene Glasröhren, deren innerer Durchmesser 9 mm und deren Länge 20 cm betrug, kamen je 10 ccm Lösung (in Kontrollversuche Wasser) und darauf 0,5 g Agar-Agar, das gut durchgeschüttelt wurde. Die Höhe des Sediments wurde nach 48 Stunden ziemlich konstant und änderte sich später nicht wesentlich[3]). Die Messungen wurden nach drei Tagen ausgeführt.

Ca-Salze. Agar-Agar. Temperatur 19 bis 20°.

Wasser	Rhodanid			Bromid				Nitrat				Chlorid			
	Konzentration in Mol.														
Kontrollversuch	0,5	1,0	2,0	0,5	1,0	1,5	2,0	0,5	1,0	1,5	2,0	0,5	1,0	1,5	2,0
	Die Höhe des Sediments in mm.														
106	96	114	180	88	101	112	123	86	96	102	116	83	85	87,5	87,5

Die Resultate der Quellungsversuche mit Ca-Salzen sind in Kurven (Abb. 1) dargestellt.

In niedrigeren Konzentrationen der Salze ist die Quellung von Agar-Agar kleiner als im Wasser, mit der Steigerung der Konzentration

[1]) Vgl. *Kahho*, diese Zeitschr. **117**, 87, 1921.
[2]) Vgl. *Walter*, l. c.
[3]) *H. Walter*, Jahrb. f. wiss. Bot. **62**, 145, 1923. Habilitationsschrift.

wird sie in einigen Lösungen (Rhodanid, Bromid) beträchtlich größer. Für die Quellungsförderung ist hier etwa dieselbe Anionenreihe

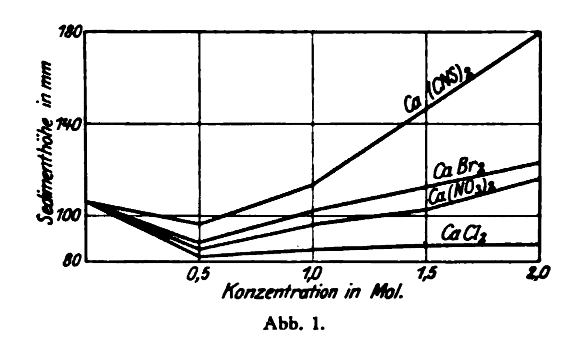


Abb. 1.

CNS > Br > NO_3 > Cl maßgebend, wie für die Hitzekoagulation des Plasmas. Ungefähr dieselben Verhältnisse zeigen uns auch die Magnesiumsalze.

Mg-Salze. Agar-Agar. Temperatur 19 bis 20°.

Wasser	Jodid				Nitrat			Bromid				Chlorid				Sulfat	
	Konzentration in Mol.																
Kontrollversuch	0,5	1,0	1,5	2,0	0,5	1,0	1,5	0,5	1,0	1,5	2,0	0,5	1,0	1,5	2,0	0,5	1,0
	Die Höhe des Sediments in mm.																
106	117	143	158	177	106	140	163	97	117	124	177	92	102	102	115	70	62

Die Kurven der Abb. 2 zeigen, daß die Beeinflussung der Quellung von Agar-Agar durch Mg-Salze nach der Anionenreihe: J, NO_3 ≥ Br

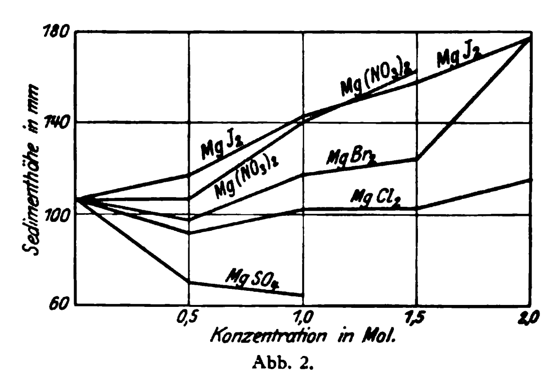


Abb. 2.

> Cl > SO_4 vor sich geht. Die Anionenwirkung ist hier ebensogut wie bei den Ca-Salzen ausgeprägt. Der etwaige Unterschied besteht darin, daß in einigen Lösungen, wie Mg-Jodid und -Nitrat, schon in niederen Konzentrationen die Quellung größer ist als im Wasser.

Aus den angeführten Quellungsversuchen sieht man, daß die Quellung bzw. Entquellung nach der lyotropen Reihe verläuft, wobei den Anionen eine dominierende Bedeutung ebenso wie bei der Hitzekoagulation zukommt. In beiden Fällen, wo wir die Wirkung der Erdalkalien nachprüften: bei der Hitzekoagulation wie auch bei den Quellungserscheinungen, ist eine gewisse Übereinstimmung der Anionenwirkungen nicht zu verkennen. In physiologischer Hinsicht sind die Wirkungen der Erdalkalien auf die Permeabilitätsverhältnisse zurückzuführen.

Zusammenfassung.

Die Salze alkalischer Erden weisen in ihrer Wirkung auf die Hitzekoagulation des Pflanzenplasmas eine große Ähnlichkeit mit den Alkalisalzen auf, wobei in erster Linie die Anionen eine Bedeutung haben, die Kationen aber weniger wirksam sind. Bei den untersuchten Salzen ist für die Fähigkeit, die Hitzekoagulation zu fördern, die lyotrope Anionenreihe maßgebend, und zwar bei der Konzentration 1 Mol für Ca-Salze $CNS > NO_3 > Br > Cl > C_2H_3O_2$, für Ba-Salze $CNS > Br > Cl$, für Sr-Salze $Br > NO_3 > Cl$ und für Mg-Salze $Br > NO_3 > (SO_4) > Cl > C_2H_3O_2$. Analog den Alkalisalzen ist dieses Verhalten der Erdalkalien zur Plasmakoagulation durch die Permeabilitätsverhältnisse zu erklären, und die oben angeführten Anionenreihen sind als Permeabilitätsreihenfolgen anzusehen, wobei die Hitzekoagulationsförderung durch die Salze parallel ihrer Eindringungsfähigkeit verläuft.

Untersuchung über die Permeabilität der Zellen.

XII. Mitteilung:

Abhängigkeit der Gewebspermeabilität von der sympathischen Innervation.

Von

L. Asher, J. Abelin und N. Scheinfinkel.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 29. Juli 1924.)

Zwei vorausgegangene Arbeiten, die unter der Leitung des erstgenannten ausgeführt wurden, nämlich diejenige von *Kajikawa*[1]) sowie diejenige von *Yamamoto*[2]) hatten sich mit dem Problem der Abhängigkeit der Gewebspermeabilität vom Nervensystem, speziell vom sympathischen Nervensystem befaßt. Die allgemeinen Gesichtspunkte, welche diese Untersuchungen veranlaßt haben, sind in der erstgenannten Arbeit von *Kajikawa* ausführlich dargelegt worden.

Kajikawa hatte, an der vorderen Kammer arbeitend, einen deutlichen Einfluß des Sympathicus auf die Permeabilität unabhängig von den etwaigen Veränderungen des Kreislaufs nachgewiesen, während im Gegensatz hierzu *Yamamoto*, der seine Untersuchungen am subkutanen Gewebe und der Muskulatur anstellte, keine Anzeichen eines spezifischen Einflusses des Sympathicus auf die Permeabilität auffinden konnte. Da vieles dafür spricht, daß die Verhältnisse des sympathischen Nervensystems nicht schematisierend behandelt werden können, vielmehr eines individualisierenden Studiums bedürfen, schien es geboten, die Frage des etwaigen Einflusses der sympathischen Innervation auf die Permeabilität der Gewebe an einem anderen Orte erneuter Prüfung zu unterziehen. Kein Ort wohl ist geeigneter zur Entscheidung prinzipieller Fragen der Permeabilität als der klassische Ort der Permeabilitätsstudien, nämlich die Speicheldrüse. Schon vor Jahren hat der eine von uns[3]) gezeigt, daß hier experimentell schärfer als irgendwo

---

[1]) *Kajikawa*, diese Zeitschr. **138**, 391, 1922.
[2]) *Yamamoto*, ebendaselbst **145**, 201, 1924.
[3]) *L. Asher*, ebendaselbst **14**, 1, 1908.

anders jeder einzelne Faktor, der an der Permeabilität beteiligt sein könnte, isoliert werden kann. Für die Frage des Einflusses der sympathischen Innervation auf die Permeabilität ist die Speicheldrüse gerade deshalb günstig, weil sie sekretorische Fasern sympathischer Natur empfängt, und jede Sekretion auf das innigste mit Permeabilität verknüpft ist. Allerdings müssen für das Ziel, welches wir im Auge haben, zwei Voraussetzungen erfüllt sein: erstens der Sympathicus muß wirklich in den Sekretionsakt als solchen eingreifen und nicht bloß mittelbar durch seine vasomotorischen Wirkungen, zweitens muß der zur Permeabilitätsprüfung herangezogene Vorgang nicht ein verwickelter Bildungsprozeß organischer Stoffe in der Drüsenzelle selbst sein, sondern ein Vorgang einfacherer Art, bei welchem die Permeabilität als solche im Vordergrund steht.

Die erste Voraussetzung wird dadurch erfüllt, daß man ein geeignetes Versuchstier auswählt. Dies ist die Katze, da Reizung des Halssympathicus der Katze echt sekretorisch wirkt und ganz andere Speichelmenge fördert als dies beim Hunde der Fall ist. Die zweite Voraussetzung suchten wir dadurch zu erfüllen, daß wir die etwaigen Änderungen in der Ausscheidung des Chlors durch den Speichel untersuchten. Denn mit Rücksicht auf das Chlor ist die Speicheldrüsenzelle mit dem Vermögen begabt, dasselbe aus dem Blute auszulesen und dann auszuscheiden, was beides als einfacher Permeabilitätsvorgang betrachtet werden kann, ohne daß damit gesagt sein soll, daß gar nichts anderes im Spiele dabei ist.

Unsere Fragestellung war die nachfolgende: Wie verhält sich die Ausscheidung von Chlor im Speichel, wenn an demselben Tiere unter sonst gleichen Bedingungen die Chlorausscheidung durch die unversehrte Speicheldrüse mit derjenigen verglichen wird, welche auf der Speicheldrüse der anderen Seite mit durchschnittenem Nervus sympathicus stattfindet? Der Versuchsplan war dementsprechend ein einfacher. An narkotisierten Katzen, die tracheotomiert waren, wurde auf der einen Seite der Sympathicus vom gemeinsamen Vagus-Sympathicusstamme getrennt und durchschnitten. In den Ausführungsgang der rechten und linken Unterkieferspeicheldrüse wurden feine Glaskanülen eingebunden. Durch subkutane Pilocarpininjektionen wurde ein ergiebiger Speichelfluß ausgelöst und der Speichel in vorgelegten Maßzylindern aufgefangen. In den Speichelproben der beiden Seiten wurde mit *Bangs* bekannter Methodik die Mikrochlorbestimmung ausgeführt; hierdurch war es möglich, mehrfache Proben des gleichen Speichels zur Kontrolle zu untersuchen.

Wir teilen drei Versuche mit, welche alle ein eindeutiges und übereinstimmendes Ergebnis hatten.

Tabelle I. Versuch vom 7. November 1923.

Katze. Äthernarkose, subkutane Injektion von 2 mg Pilocarpin hydrochl. Gesammelte Speichelmengen auf beiden Seiten gleich. Kochsalzgehalt in Prozenten.

Seite mit Sympathicus	Seite ohne Sympathicus
0,309	0,128

Tabelle II. Versuch vom 19. Februar 1924.

Katze.

Äthernarkose, subkutane Injektion von 2 ccm Pilocarpin hydrochl. 1/1000.

Seite mit Sympathicus	Seite ohne Sympathicus
Gesamtmenge Speichel = 7,2 ccm	Gesamtmenge Speichel = 8,4 ccm
NaCl in Proz. = 0,239	NaCl in Proz. = 0,150
NaCl total = 17,2 mg	NaCl total = 12,6 mg

Tabelle III. Versuch vom 2. Juni 1924.

Katze.

Äthernarkose, subkutane Injektion von 2 ccm Pilocarpin hydrochl. 1/1000. Während der ersten halben Stunde auf der Seite mit Sympathicus 7,3 ccm Speichel. Während der ersten halben Stunde auf der Seite ohne Sympathicus 7,3 ccm Speichel. In den folgenden 15 Minuten auf der Seite mit Sympathicus 3,2 ccm Speichel. In den folgenden 15 Minuten auf der Seite ohne Sympathicus 2,8 ccm Speichel.

Mittelwert des Kochsalzgehaltes in Prozenten.

Seite mit Sympathicus	Seite ohne Sympathicus
Erste Periode	
0,157	0,117
Zweite Periode	
0,082	0,043

Ehe wir auf das Hauptergebnis eingehen, seien einige Bemerkungen über die beiläufigen Beobachtungen gemacht. In der Regel setzte auf derjenigen Seite, wo der Sympathicus durchschnitten war, die Speichelabsonderung etwas früher ein. Was die Speichelmengen anbetraf, so war die Menge auf beiden Seiten entweder gleich oder auf der Seite ohne Sympathicus etwas größer, aber der Unterschied war kein derartiger, daß er wesentlich in Berücksichtigung zu ziehen gewesen wäre. Da wir Pilocarpin als Mittel zur Speichelanregung gewählt hatten, sind wohl die beiden Speicheldrüsen in gleicher Weise vom Reiz getroffen und alle Bedingungen, mit Ausnahme des Fehlens des Sympathicus, auf beiden Seiten gleich.

Das wesentliche und entscheidende Ergebnis der mitgeteilten Versuche besteht darin, daß in allen Fällen der Prozentgehalt an Kochsalz

auf derjenigen Seite, wo die sympathische Innervation fehlt, bedeutend kleiner war als auf der im Besitz ihres Sympathicus befindlichen Seite. Hieraus folgt, daß das Fehlen der sympathischen Innervation die Permeabilität der Speicheldrüsenzelle für Kochsalz geändert hat. Die Versuche sagen zwar nichts darüber aus, ob der Unterschied am veränderten Auslese- oder am veränderten Scheidevermögen liegt. Die nächstliegendste Annahme ist wohl, daß jedenfalls der primäre Akt der Permeabilität das Auslesevermögen durch das Fehlen der sympathischen Innervation eine Veränderung erlitten hat. Das Ergebnis ist in seinen Grundzügen übereinstimmend mit den früher mitgeteilten Erfahrungen von *Kajikawa* an der vorderen Kammer, der gleichfalls eine Herabsetzung der Permeabilität als Folge des Fehlens der sympathischen Innervation beobachtete, nur mit dem Unterschied, daß es sich bei ihm um organische Stoffe handelte. Die Beziehungen des Sympathicus zur Ausscheidung von organischen Stoffen sind ja seit den grundlegenden Arbeiten von *R. Heidenhain* wohlbekannt. Wie schon oben angedeutet, handelt es sich aber hierbei um ganz andere Dinge, die überhaupt nicht mit der Chlorausscheidung verglichen werden können, denn die organischen Stoffe, welche bei Reizung des Sympathicus vermehrt durch den Speichel ausgeschieden werden, entstammen der Drüsenzelle selbst, und die am Auslesevermögen beteiligte Permeabilität, der Austausch zwischen Blutkapillaren und Drüsenzellen, kommt hierbei gar nicht in Betracht. Die von uns beobachtete Erscheinung läßt sich auch schlechterdings nicht durch das Überwiegen der parasympathischen Chordaerregung bei fehlendem Sympathicus zurückführen, da ja nach dem *Heidenhain-Werther*schen Gesetz mit Zunahme der Chordareizung die Kochsalzausscheidung ansteigt. Wir gelangen daher zu dem Satze, daß das Fehlen der sympathischen Innervation selbst es ist, welches die Permeabilität der Speicheldrüsenzellen für Kochsalz vermindert. Umgekehrt wird man zu dem wohl noch wichtigeren Schluß kommen, daß die nervösen Impulse, welche die Speicheldrüse auf dem Wege des Sympathicus erreichen, die Permeabilität für Kochsalz erhöhen.

Heidenhain[1]) gibt eine Tabelle an, welche die Zusammensetzung des Speichels an organischer Substanz und an Salzen bei Reizung des Nervus Jacobsonii ohne und mit gleichzeitiger Reizung des Sympathicus enthält. Er selbst legt dabei nur Gewicht auf die allerdings sehr erhebliche Vermehrung der organischen Substanzen bei gleichzeitiger Reizung des Sympathicus. Bei genauerer Durchsicht zeigt sich im Anfang eine sehr geringfügige Steigerung an Salzen. In An-

[1]) *R. Heidenhain*, Hermanns Handb. d. Physiol. 5, T. I, S. 55, Leipzig 1883.

betracht der sehr kleinen Zahlen und der früher zur Verfügung stehenden Methoden konnten hierauf keinerlei Schlüsse gegründet werden. In unseren Versuchen sind die Unterschiede von einer ganz anderen Größenordnung.

Die von uns gefundene Tatsache, daß unter dem Einfluß des Nervus sympathicus die Permeabilität für Chlor gesteigert wird, gewinnt an Bedeutung, wenn man diese Tatsache mit Beobachtungen in Zusammenhang bringt, die auf einem anderen Gebiete gemacht worden sind. *Jungmann* und *Meyer*[1]) und *Asher* und *Jost*[2]) haben Beobachtungen beschrieben, aus denen sie den Schluß zogen, daß die Kochsalzausscheidung durch die Niere vermittels sympathischer Erregungen gefördert wurde, und *Jungmann* und *Meyer* stellten die Lehre auf, daß es in der Medulla oblongata analog dem Zuckerzentrum ein Salzzentrum gäbe. Die von den genannten Autoren beigebrachten Tatsachen standen im guten Einklang mit der von ihnen übereinstimmend gegebenen Erklärung. Aber man wird sich nicht verhehlen können, daß die Dinge bei der Niere sehr verwickelt liegen und daher die gegebenen Deutungen nicht als abschließend betrachtet wurden. Um so erwünschter ist es, daß in unseren Versuchen an der Speicheldrüse durchsichtig einfache und eindeutige Verhältnisse vorliegen, so daß dieselben auch geeignet sind, die eben genannten Auffassungen hinsichtlich der Chloridausscheidung durch die Niere zu stützen. Wir gelangen daher verallgemeinernd zu der Lehre, daß die Permeabilität für Salze an gewissen Drüsenzellen auch dem Einfluß des sympathischen Nervensystems unterstellt ist.

Man muß in der Verallgemeinerung Vorsicht obwalten lassen. Hinsichtlich der Speicheldrüse gilt das von uns Gesagte zunächst nur für die Katze. Beim Hunde scheinen die Dinge anders zu liegen. Wir teilen hierüber die nachfolgenden beiden Versuche mit, die an zwei Hunden angestellt wurden, an denen der eine von uns zu anderen Zwecken mehrere Monate vorher Gallenfisteln angelegt hatte, woran sich später die Exstirpation der Ovarien schloß. Die Versuchsanordnung war im übrigen genau die gleiche wie in den an Katzen angestellten Versuchen.

Die Ergebnisse dieser beiden Versuche an Hunden sind andere wie diejenigen an der Katze. In dem in Tabelle V befindlichen Versuch ist gerade umgekehrt auf derjenigen Seite, wo der Sympathicus fehlt. der Prozentgehalt an Kochsalz wesentlich höher. In dem Versuch von Tabelle IV ist in der ersten Periode gleichfalls der Prozentgehalt an Kochsalz im Speichel auf derjenigen Seite, wo der Sympathicus

---

[1]) *Jungmann* und *Meyer*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **78**, **49**, 1913.

[2]) *Asher* und *Jost*, Zeitschr. f. Biol. **64**, 441, 1914.

Tabelle IV. Hund.

Subkutane Injektion von 3 ccm Pilocarpin hydrochl. $^1/_{1000}$.

	Mit Sympathicus	Ohne Sympathicus
Erste Periode		
Menge in 10 Minuten	8,3 ccm	9,6 ccm
NaCl Prozentgehalt, Mittelwert .	0,349	0,406
Gesamtmenge	28,96 mg	38,98 mg
Zweite Periode		
Menge in 10 Minuten	10,0 ccm	10,9 ccm
NaCl Prozentgehalt, Mittelwert .	0,472	0,403
Gesamtmenge	47,2 mg	43,93 mg

Tabelle V. Hund.

Subkutane Injektion von 9 ccm Pilocarpin hydrochl. $^1/_{1000}$ (dreimal à 3 ccm).

	Mit Sympathicus	Ohne Sympathicus
Menge in 30 Minuten	26,0 ccm	30,0 ccm
NaCl Prozentgehalt, Mittelwert .	0,483	0,563
Gesamtmenge	0,125 g	0,169 g

fehlt, etwas größer. Nur in der zweiten Periode erfolgt ein Umschlag, indem auf der Seite mit Sympathicus der Kochsalzgehalt des Speichels 0,472 Proz. beträgt, während auf der Seite ohne Sympathicus der sehr viel niedrigere Wert von 0,408 Proz. zur Beobachtung gelangt. Es liegen also die Verhältnisse beim Hunde anders als bei der Katze. Dies könnte daher rühren, daß die Rolle des Sympathicus an den Vorgängen in der Speicheldrüse eine verschiedene ist als bei der Katze. Für diese Annahme spricht als gewichtiger Grund, daß die Reizung des Sympathicus bei Hund und Katze sich ganz anders auswirkt. Beim Hunde stockt der Speichelfluß bei alleiniger Sympathicusreizung, bei der Katze führt auch die alleinige Sympathicusreizung zu einer Speichelabsonderung. Lassen sich daher die Unterschiede unserer Befunde an Katze und Hund aus den bekannten Unterschieden der sympathischen Innervation von Tierart zu Tierart verständlich machen, so liegen doch in unseren Versuchen noch andere Momente vor, welche der Berücksichtigung wert sind. In den beiden Fällen, wo auf der Seite ohne Sympathicus die Kochsalzkonzentration eine höhere ist, ist auch die Absonderungsgeschwindigkeit eine größere, weshalb nach der Regel von *Heidenhain-Werther* eine höhere Kochsalzkonzentration zu erwarten war. In unseren Katzenversuchen lagen die Dinge insofern günstig, als die Mengen auf beiden Seiten annähernd gleich waren. Es ist beachtenswert, daß wo, wie in Tabelle IV, zweite Periode, der Unterschied in der Menge des Speichels von beiden Seiten ein geringerer wird, gerade dann auch die Kochsalzkonzentration auf der Seite ohne

Sympathicus eine merklich niedrigere ist wie auf derjenigen mit Sympathicus. Es käme also dieselbe Abhängigkeit der Permeabilität von der sympathischen Innervation auch beim Hunde zur Geltung, wo andere Momente das Phänomen nicht zu unterdrücken vermögen.

Zusammengefaßt sind die Resultate unserer Untersuchung die nachfolgenden:

1. Bei Katzen ist der Speichel derjenigen Seite, welche der sympathischen Innervation beraubt worden ist, kochsalzärmer.

2. Bei Hunden kann das gleiche der Fall sein, wenn die Speichelmengen annähernd gleich sind, wenn aber die Speichelmengen auf der sympathicuslosen Seite größer sind, ist der Kochsalzgehalt entsprechend der *Heidenhain-Werther*schen Regel höher.

3. Aus den klaren Verhältnissen bei den Versuchen an Katzen folgt, daß an der Permeabilität von Drüsenzellen für Kochsalz die sympathische Innervation einen Anteil hat.

4. Die gefundenen Tatsachen sind auch eine Stütze für die Annahme, daß die sympathische Innervation der Niere einen regelnden Einfluß auf die Permeabilität derselben für Salze besitzt.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

Nr. 67.

Erneute Untersuchungen über die Milz als ein Organ des Eisenstoffwechsels.

Von

Kimio Nakayama.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 29. Juli 1924.)

Die Arbeiten des Berner physiologischen Instituts zur Funktion der Milz haben zur Aufstellung der Lehre geführt, daß ihr eine Rolle im Eisenstoffwechsel zukomme, indem sie dem Körper im Stoffwechsel frei werdendes Eisen zur weiteren Verarbeitung aufbewahre. Da vor kurzem *Asher*[1]) in einem Vortrage, gehalten vor dem Institute of Medicine of Chicago 1923, den jetzigen Stand der Kenntnisse von der Funktion der Milz zusammenfassend behandelt hat, kann ich mich, hierauf verweisend, darauf beschränken, kurz einige Bemerkungen zum speziellen Problem der Beziehungen zum Eisenstoffwechsel zu machen. Die neuerdings von *Barcroft* erhobenen Befunde über die Kreislaufsverhältnisse in der Milz weisen mit großer Bestimmtheit darauf hin, wie vorzüglich die Milz zu einer Stätte der Retention geeignet ist. Auf der anderen Seite haben *Pearce*, *Krumbhaar* und *Frazier*[2]), welche in ihren umfassenden und interessanten Studien experimenteller

---

[1]) *Leon Asher*, The function of the spleen, Proceedings of the Institute of Medicine of Chicago 1923, S. 1.

[2]) *Pearce*, *Krumbhaar* und *Frazier*, The spleen and Anemia 1917. Philadelphia and London, J. B. Lippincott Company.

und klinischer Natur über die Milz auch Eisenstoffwechselversuche anstellten, die Angabe gemacht, daß, wenn eine vermehrte Eisenausscheidung stattfindet — sie fanden dieselbe nur in einer gewissen Anzahl ihrer Beobachtungen —, diese nicht von dem Fehlen der Milz unmittelbar abhängen soll, sondern nur von einer vermehrten Blutkörperchenzerstörung im Zusammenhang mit der sekundären Anämie. Eine erneute Untersuchung des Eisenstoffwechsels vor und nach Entmilzung erschien deswegen angebracht. Aber nicht bloß wegen der Nichtübereinstimmung der Auffassungen in den Arbeiten des Berner und des Philadelphia-Instituts, sondern vor allem deshalb, weil wir durch *Jahn*[1]) in den Besitz einer sehr viel genauer arbeitenden Bestimmungsmethode des Eisens gelangt sind, als in den früheren Arbeiten benutzt werden konnte, und nach meinen Erfahrungen dieselbe sich für die kleinen Mengen, die bei der Untersuchung des Eisenstoffwechsels in Betracht kommen, vorzüglich bewährt. Was die Beziehungen zwischen Milz und Eisenstoffwechsel anlangt, so sind dieselben durchaus nicht bloß durch Eisenbestimmungen im Kote festgestellt worden, sondern auch vermittels anderer Beobachtungsmethoden, welche gleichfalls auf das bestimmteste diese Beziehungen bestätigten.

Meine Untersuchungen wurden an zwei Hunden angestellt, die eine längere Periode vor der Entmilzung auf die verschiedenste Weise ernährt wurden, um den Einfluß hiervon auf die Größe der Eisenausscheidung im Kote zu prüfen. Sie wurden im Hungerzustande gehalten, mit Fleisch oder mit einer eisenarmen, sonst aber genügenden Nahrung gefüttert.

Die letztere bestand aus:

	Für den Hund 1 g	Für den Hund 2 g
Topfen	50,0	70,0
Stärkekleister	50,0	70,0
Schweineschmalz . . .	50,0	70,0
Rohrzucker	50,0	70,0

(mit Wasser gekocht)

Die Nahrung habe ich selber in Porzellan- und eisenfreien Aluminiumschalen zubereitet, in den gleichen Geräten wurde Nahrung und Wasser gereicht. Die Hunde befanden sich in geräumigen Stoffwechselkäfigen mit Glaswänden, das Rahmenwerk derselben war mit frischer weißer Lackfarbe überstrichen. Der Boden derselben bestand aus eisenfreiem Eternit mit engen Durchlochungen zum Abfluß des Harns. Den Kot habe ich mit Glasspateln von der Eternitplatte entfernt, dann mit destilliertem Wasser nachgespült. Zweimal täglich führte ich längere Zeit die Hunde an der Leine im Garten des Instituts spazieren, wobei darauf geachtet

[1]) *Fr. Jahn,* Zeitschr. f. physiol. Chem. 75, 1911.

wurde, daß die Tiere nichts vom Boden aufnahmen und keinen Kot abgaben. Ich glaube durch meine Maßnahmen in den entscheidenden Versuchen jedes fremde Eisen ferngehalten zu haben. Gelegentliche Erfahrungen während meiner Versuche haben mich belehrt, daß man nicht streng genug in der Haltung und Wartung der Tiere sein kann. Gelegentlich, wenn sie etwa zum Kotfressen neigten, mußte ihnen ein Maulkorb angelegt werden.

Die Veraschung des Kotes geschah feucht, nach der Methode von *Neumann*. Die Methode bedarf, weil in der Literatur genau beschrieben, keiner Erörterung. Ich bemerke hier nur, daß der Kot in einer vorher gewogenen Porzellanschale gesammelt und unter Hinzufügung von mit reinster Schwefelsäure pro analysi angesäuerten destillierten Wassers auf das Wasserbad gebracht und ganz abgetrocknet wurde, um möglichst konstantes Gewicht des Kotes und gleichmäßige Verteilung des Eisens darin, worauf sehr zu achten ist, zu erhalten. Jetzt wird der Kot auf die Wage gebracht und einige Gramm davon werden feucht verascht. Sobald die Veraschung genug war, fügte ich, nach vollständiger Verjagung der Salpetersäure, dreimal so viel Wasser hinzu, wie Säuregemisch verbraucht wurde, erhitzte und kochte 5 bis 10 Minuten.

Zur eigentlichen Titrierung wird nach Zugabe von 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure die Aschenlösung in warmem Zustande in einen Saugkolben übergefüllt und mit luftfreiem Wasser, bis 200 ccm, nachgespült. Nach meinen Erfahrungen soll man nach der Nachspülung den Kolben einmal mit Rhodankalilösung auf die Gegenwart von Eisen untersuchen. Wenn die Veraschung nicht hinreichend war, gelegentlich auch aus einer anderen Ursache, kann ein Zurückbleiben von Eisen im Kolben vorkommen, dessen Nichtbemerken die Analyse verderben würde.

Die Titantitrierung nach *Jahn* führte ich genau nach seiner Beschreibung in der oben genannten Arbeit aus. Unter Berücksichtigung vom Eisengehalt der Blindversuche läßt sich auf Grund der Analysenwerte der Eisengehalt im ganzen Kote pro Tag und pro Kilogramm Körpergewicht in Milligrammen berechnen.

Ich gebe nachfolgend die Resultate von zehn Blindversuchen der Eisenanalysen mit den gleichen Mengen, die im eigentlichen Versuch zur Verwendung kamen.

	0,037 mg
	0,016 ,,
	0,020 ,,
	0,024 ,,
	0,015 ,,
	0,039 ,,
	0,014 ,,
	0,020 ,,
	0,032 ,,
	0,045 ,,
Mittelwert . .	0,026 mg

Vor und nach der Milzexstirpation bestimmte ich an beiden Hunden mit *Sahlis* Hämoglobinometer den Hämoglobingehalt. Die Ergebnisse dieser Bestimmungen finden sich in Tabellen I und II.

Tabelle I.

Hund 1. Hämoglobinbestimmung (mit Hämoglobinometer nach *Sahli*).

Datum 1923	Hämoglobingehalt Proz.	Bemerkungen	Datum 1923—1924	Hämoglobingehalt Proz.	Bemerkungen
20. XI.	75	Seit 23. X. mit eisenarmer Nahrung gefüttert	6. XII.	69	Seit 23. X. mit eisenarmer Nahrung gefüttert
21. XI.	75		7. XII.	75	
22. XI.	73		11. XII.	75	
23. XI.	77		13. XII.	70	
26. XI.	72		15. XII.	67	
28. XI.	72		17. XII.	68	
29. XI.	77		19. XII.	66	
Mittelwert: 75			22. XII.	68	
			24. XII.	69	
			27. XII.	67	
			29. XII.	68	
Am 30. XI. die Milz entfernt			3. I.	68	
			5. I.	65	
			7. I.	69	Vom 7. I. an mit Fleisch gefüttert
			10. I.	68	
			12. I.	69	
			14. I.	69	14. I. bis 18. I. Menses
			18. I.	66	
			22. I.	68	
			25. I.	68	
			28. I.	67	
			30. I.	70	
			1. II.	73	
			4. II.	70	
			6. II.	67	
			8. II.	68	
			11. II.	71	
			14. II.	70	
			18. II.	68	
			21. II.	67	
			25. II.	65	
			29. II.	68	
			3. III.	67	
			Mittelwert: 69		

Angesichts der von einigen Autoren vertretenen Auffassung, daß die Entfernung der Milz eine Anämie zur Folge habe, sollen die mitgeteilten Zahlen hieraufhin geprüft werden. Hund 1, ein Weibchen, hatte vor der Milzexstirpation 75 Proz. Hämoglobin durchschnittlich. Am 30. November 1923 wurde die Milz exstirpiert. In der Zeit vom 6. Dezember 1923 bis 3. März 1924 wurden fortlaufend Hämoglobinbestimmungen ausgeführt. Der Mittelwert des Hämoglobingehalts in dieser dreimonatigen Periode betrug 69 Proz. Der Unterschied ist ein so geringfügiger, daß von einer ausgesprochenen Anämie keine Rede sein kann, höchstens von einer Tendenz zu einem etwas niedrigeren Hämoglobinspiegel. In Rücksicht zu ziehen wäre noch, daß dieser Hund 1 in der Zeit vom 23. Oktober 1923 bis 7. Januar 1924 mit einer

Tabelle II.

Hund 2. ♀.

Datum 1923	Vor der Entmilzung Hämoglobingehalt Proz.	Bemerkungen
21. XI.	75	Seit 26. XII. mit Fleisch gefüttert
22. XI.	80	
23. XI.	78	
26 XI.	78	
28. XI.	80	
29. XI.	78	
1. XII.	76	
3. XII.	76	

Mittelwert: 78

4. XII. die Milz entfernt

Datum 1923—1924	Nach der Entmilzung Hämoglobingehalt Proz.	Bemerkungen
7. XII.	74	Von heute an mit eisenarmer Nahrung gefüttert
11. XII.	81	
13. XII.	85	
15. XII.	86	
17. XII.	82	
19. XII.	83	
22. XII.	83	
24. XII.	76	
27. XII.	73	
29. XII.	70	
3. I.	70	
5. I.	74	
7. I.	73	Von heute an mit Fleisch gefüttert
10. I.	69	
12. I.	73	
14. I.	74	
18. I.	75	
22. I.	77	
25. I.	79	
28. I.	78	
30. I.	76	
1. II.	75	
4. II.	73	
6. II.	78	
8. II.	78	
11. II.	82	
14. II.	82	

Mittelwert: 76

eisenarmen Nahrung gefüttert wurde, vom 7. Januar 1924 aber mit Fleisch. Vor Exstirpation der Milz machte sich das Fehlen des Eisens in der Nahrung keineswegs im Hämoglobingehalt bemerkbar. Es ist dies nicht auffallend, seitdem wir wissen, wie außerordentlich lange Perioden einseitig abnormer Ernährung erforderlich sein können, um nachweisbare Symptome zu erzeugen. Ob die nach der Milzexstirpation einsetzende Verminderung des Hämoglobingehaltes eine Folge des Fehlens der Milz ist, läßt sich nicht mit Bestimmtheit sagen, auch nicht, ob das Niveau des Hämoglobinspiegels, welches aufrecht erhalten wird, von der Fleischfütterung herrührt. Es entspräche allerdings den Erfahrungen des Berner physiologischen Instituts, daß die Ernährung mit eisenhaltigem Fleisch dem Anämie fördernden Einfluß der Milzexstirpation entgegenwirke. Wenn ich im vorliegenden Falle Bedenken habe, diesen Zusammenhang zu behaupten, so geschieht es deshalb,

weil der nachher zu besprechende Eisenstoffwechsel nicht in der Richtung der Anämieerzeugung lag und weil, in Übereinstimmung hiermit, ich im Blute keine Jollykörper nachweisen konnte.

Bei Hund 2, männlichen Geschlechts, liegen die Verhältnisse klar. Vor der Milzexstirpation betrug der Mittelwert des Hämoglobingehaltes 78 Proz., nach der Milzexstirpation 76 Proz. Der Hund hatte demnach auch bei fehlender Milz keine Anämie. Allerdings wurde zu einer Zeit, wo eine gewisse Herabsetzung des Hämoglobingehaltes zur Beobachtung kam, die bisherige eisenarme Ernährung durch Fleischfütterung ersetzt. Deshalb ist der Schluß zulässig, daß ein mit genügend Eisen ernährter milzloser Hund keine Anämie zeigt. Im Blute dieses Hundes konnte ich Jollykörper nachweisen, ein meiner Meinung nach sicheres hämotologisches Ausfallsymptom der fehlenden Milzfunktion.

In Tabelle III finden sich die Ergebnisse der Untersuchung des Eisenstoffwechsels bei Hund 1 in der Periode vor der Milzexstirpation, welche sich über die Zeit vom 8. Juli 1923 bis 4. November 1923 erstreckte. Teils war diese lange Versuchsperiode durch die Versuchsanordnung bedingt, teils aber durch die Eigenart des Versuchstieres und gewisse Zufälle, die nicht geringe Schwierigkeiten verursachten.

In der ersten Zeit wurde das Tier mit eisenarmer Nahrung gefüttert. Der Mittelwert der täglichen Eisenausscheidung erreichte den sehr niedrigen Wert von 3,743 mg bzw. 0,617 mg pro Kilogramm Körpergewicht. Bei einer nachfolgenden Periode mit Fleischfütterung hob sich der Mittelwert der täglichen Eisenausscheidung auf 16,08 mg bzw. 2,404 mg pro Kilogramm Körpergewicht. Am 18. August erhielt das Tier 1 g Ferr. carb. sacch. per os. Es erfolgte am 20. August eine Eisenausscheidung von 48,216 mg. In einer etwas späteren Hungerperiode betrug die tägliche Eisenausscheidung 5,991 mg bzw. 0,821 mg pro Kilogramm Körpergewicht. In der nachfolgenden Fütterungsperiode mit täglich 250 g Fleisch hob sich die tägliche Eisenausscheidung auf durchschnittlich 20,139 mg bzw. 2,887 mg pro Kilogramm Körpergewicht. Darauf folgte eine Periode eisenarmer Nahrung mit einer durchschnittlichen täglichen Eisenausscheidung von 4,751 mg bzw. 0,627 mg pro Kilogramm Körpergewicht.

An diesen Ergebnissen ist wohl das Beachtenswerteste, daß an je zwei zeitlich getrennten Perioden von Fütterung mit eisenarmer Nahrung oder mit Fleisch die je zugehörige Eisenausscheidung eine fast vollständig übereinstimmende war. Hieraus folgt, daß meine Methode die Verhältnisse des Eisenstoffwechsels getreu zum Ausdruck bringt. Es scheint mir auch aus meinen Ergebnissen hervorzugehen, daß unter sonst gleichen Bedingungen die Eisenausscheidung eine recht konstante sein kann.

Tabelle III.

Hund 1. ♀. Vor der Entmilzung.

Datum 1923	Getrocknete Kotmenge g	Gefundene Eisenmenge mg	Eisenmenge pro Tag pro Tier mg	Mittelwert mg	Eisenmenge pro Tag pro Kilo mg	Mittelwert mg	Körpergewicht kg	Bemerkungen
8. VII.	13,37	5,544	5,544	—	0,940	—	5,90	Seit 3. VII. mit eisenarmer Nahrung gefüttert
9. VII.	—	—	—	—	—	—	—	
10. VII.	11,30	4,315	2,158	—	0,366	—	(5,90)	
11. VII.	2,89	1,326	1,326	—	0,221	—	(6,00)	
12. VII.	—	—	—	—	—	—	—	
13. VII.	9,66	14,458	7,229	—	1,185	—	(6,10)	
14. VII.	—	—	—	3,743	—	0,617	—	
15. VII.	11,81	3,535	1,768	—	0,285	—	6,20	
16. VII.	—	—	—	—	—	—	—	
17. VII.	8,46	5,768	2,884	—	0,743	—	(6,10)	
18. VII.	9,34	4,236	4,236	—	0,694	—	(6,10)	
19. VII.	—	—	—	—	—	—	—	
20. VII.	—	—	—	—	—	—	6,05	
21. VII.	—	—	—	—	—	—	—	
22. VII.	9,50	16,946	4,239	—	0,659	—	(6,10)	
6. VIII.	—	—	—	—	—	—	6,60	Seit 30. VII. 250 g Fleisch (pro Tag) gegeben
7. VIII.	15,53	26,058	13,029	—	1,974	—	(6,60)	
8. VIII.	—	—	—	—	—	—	—	
9. VIII.	8,77	22,986	11,493	—	1,741	—	(6,60)	
10. VIII.	—	—	—	—	—	—	—	
11. VIII.	—	—	—	16,082	—	2,404	—	
12. VIII.	9,96	51,407	17,136	—	2,558	—	(6,70)	
13. VIII.	—	—	—	—	—	—	—	
14. VIII.	9,92	32,945	16,473	—	2,459	—	(6,70)	
15. VIII.	—	—	—	—	—	—	—	
16. VIII.	—	—	—	—	—	—	—	
17. VIII.	10,84	59,588	19,863	—	2,943	—	6,70	
18. VIII.	—	—	—	—	—	—	—	18. VIII. 1 g Ferr. carb. sacch. per os gegeben, mit Fleisch gefütt.
19. VIII.	—	—	—	—	—	—	—	
20. VIII.	8,40	144,649	48,216	—	7,091	—	(6,80)	
21. VIII.	—	—	—	—	—	—	—	
22. VIII.	—	—	—	—	—	—	—	
23. VIII.	10,86	54,955	18,318	—	2,694	—	(6,80)	
24. VIII.	—	—	—	—	—	—	6,85	25. bis 27. VIII. Hungerzustand
25. VIII.	—	—	—	—	—	—	—	
26. VIII.	—	—	—	—	—	—	—	
27. VIII.	8,32	23,964	5,991	5,991	0,821	0,821	6,30	
7. X.	—	—	—	—	—	—	6,65	Seit 2. X. 250 g Pferdefleisch (pro Tag) gegeben
8. X.	7,23	42,447	21,224	—	3,168	—	(6,70)	
9. X.	—	—	—	—	—	—	—	
10. X.	—	—	—	—	—	—	—	
11. X.	—	—	—	—	—	—	—	
12. X.	—	—	—	20,139	—	2,887	6,75	
13. X.	17,37	106,263	21,253	—	3,149	—	(6,75)	
14. X.	—	—	—	—	—	—	—	
15. X.	—	—	—	—	—	—	—	
16. X.	12,72	60,360	20,127	—	2,960	—	(6,80)	
17. X.	—	—	—	—	—	—	—	
18. X.	6,59	32,575	16,288	—	2,344	—	6,95	

Tabelle III. (Fortsetzung).

Datum 1923	Getrocknete Kotmenge g	Gefundene Eisenmenge mg	Eisenmenge pro Tag pro Tier mg	Mittelwert mg	Eisenmenge pro Tag pro Kilo mg	Mittelwert mg	Körpergewicht kg	Bemerkungen
13. XI.	—	—	—	—	—	—	7,15	Seit 23. X. mit eisenarmer Nahrung gefüttert
14. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
15. XI.	3,36	11,257	3,752	—	0,518	—	(7,25)	
16. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
17. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
18. XI.	4,68	12,024	4,008	—	0,537	—	(7,50)	
19. XI.	—	—	—	4,751	—	0,627	7,55	
20. XI.	11,67	15,832	7,916	—	1,042	—	(7,60)	
21. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
22. XI.	5,43	6,726	3,364	—	0,437	—	(7,70)	
23. XI.	4,63	5,765	5,765	—	0,739	—	(7,80)	
24. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
25. XI.	8,58	10,165	5,083	—	0,643	—	7,90	
26. XI.	—	—	—	—	—	—	—	Hunger
27. XI.	—	—	—	—	—	—	—	„
28. XI.	—	—	—	—	—	—	7,50	Gefüttert
29. XI.	10,15	18,732	4,783	—	0,624	—	(7,50)	Hunger
30. XI.	—	—	—	—	—	—	—	„
1. XII.	—	—	—	—	—	—	—	„
2. XII.	—	—	—	—	—	—	—	Gefüttert
3. XII.	—	—	—	—	—	—	—	Hunger
4. XII.	6,15	7,786	1,557	—	0,209	—	7,45	Entmilzung

Am 30. November fand unter aseptischen Kautelen in der üblichen Weise die Milzexstirpation statt. Die Milz wog 17,7 g. Die Heilung fand per primam statt. Am 6. Dezember konnten die Nähte entfernt werden. Vom 5. Dezember 1923 bis 6. März 1924 dauerte die Untersuchung des Eisenstoffwechsels, die von manchen Zwischenfällen unterbrochen wurde. Die Ergebnisse sind in Tabelle IV enthalten.

In der ersten Periode, in welcher das Tier eisenarm ernährt wurde, betrug die durchschnittliche tägliche Eisenausscheidung 4,568 mg bzw. 0,598 mg pro Kilogramm Körpergewicht. Drei Monate nach der Entmilzung wurde nochmals die Eisenausscheidung während einer eisenarmen Ernährung untersucht. Sie betrug durchschnittlich pro Tag 4,751 mg bzw. 0,604 mg pro Kilogramm Körpergewicht. Verglichen mit der Eisenausscheidung vor Entmilzung unter den gleichen Ernährungsbedingungen ist kein wesentlicher Unterschied zu verzeichnen.

In der Periode der Fütterung mit Pferdefleisch ist die Eisenausscheidung eher etwas kleiner als vor der Milzexstirpation.

Nun bietet das Tier einige Besonderheiten. Erstens ist es ein Weibchen, und es liegt Veranlassung zu der Annahme vor, daß sowohl der Eisenstoffwechsel als solcher, wie auch die Regulation desselben

Tabelle IV.

Hund 1. ♀. Nach der Entmilzung.

Datum 1923—1924	Getrocknete Kotmenge g	Gefundene Eisenmenge mg	Eisenmenge pro Tag pro Tier mg	Mittelwert mg	Eisenmenge pro Tag pro Kilo mg	Mittelwert mg	Körpergewicht kg	Bemerkungen
5. XII.	2,17	2,556	2,556	—	0,343	—	(7,45)	3. bis 21. XII. mit eisenarmer Nahrung gefüttert
6. XII.	3,92	4,763	4,763	—	0,639	—	(7,45)	
7. XII.	—	—	—	—	—	—	7,45	
8. XII.	—	—	—	—	—	—	—	
9. XII.	10,45	10,287	3,429	—	0,457	—	(7,50)	
10. XII.	2,24	2,532	2,532	—	0,333	—	(7,60)	
11. XII.	—	—	—	—	—	—	—	
12. XII.	4,20	6,197	3,099	—	0,403	—	7,70	
13. XII.	6,37	8,677	8,677	—	1,127	—	(7,70)	
14. XII.	—	—	—	4,568	—	0,598	—	
15. XII.	—	—	—	—	—	—	—	
16. XII.	—	—	—	—	—	—	—	
17. XII.	—	—	—	—	—	—	—	
18. XII.	—	—	—	—	—	—	—	
19. XII.	—	—	—	—	—	—	—	
20. XII.	—	—	—	—	—	—	—	
21. XII.	11,68	42,648	5,331	—	0,692	—	7,70	
22. XII.	—	—	—	—	—	—	—	Hunger
23. XII.	3,03	2,817	1,409	1,409	0,188	0,188	(7,50)	„
24. XII.	—	—	—	—	—	—	7,35	24. XII. bis 1. I. mit eisenarmer Nahrung gefüttert
25. XII.	—	—	—	—	—	—	—	
26. XII.	—	—	—	—	—	—	—	
27. XII.	—	—	—	—	—	—	—	
28. XII.	6,77	28,475	5,695	5,136	0,770	0,694	7,40	
29. XII.	3,80	6,758	6,758	—	0,913	—	(7,40)	
30. XII.	—	—	—	—	—	—	—	
31. XII.	3,41	6,914	3,457	—	0,467	—	(7,40)	
1. I.	2,22	4,080	4,080	—	0,551	—	(7,40)	
2. I.	—	—	—	—	—	—	—	Hunger
3. I.	—	—	—	—	—	—	—	„
4. I.	2,47	4,422	1,474	1,474	0,203	0,203	7,25	„
11. I.	—	—	—	—	—	—	7,30	Seit 7. I. 250 g Pferdefleisch (pro Tag) gegeben
12. I.	—	—	—	—	—	—	—	
13. I.	—	—	—	—	—	—	—	
14. I.	—	—	—	—	—	—	7,60	14. I. bis 18. I. Menstruation
15. I.	7,69	46,874	—	—	—	—	—	
16. I.	9,03	50,927	16,300	—	2,173	—	(7,50)	17. bis 21. I. wegen der Durchfälle keine Untersuchung
22. I.	—	—	—	—	—	—	—	
23. I.	—	—	—	—	—	—	—	
24. I.	—	—	—	—	—	—	—	
25. I.	—	—	—	—	—	—	—	
26. I.	—	—	—	—	—	—	—	
27. I.	—	—	—	—	—	—	—	
28. I.	10,69	78,557	11,277	—	1,455	—	7,75	
29. I.	—	—	—	—	—	—	—	
30. I.	—	—	—	—	—	—	—	
31. I.	7,14	45,601	15,200	—	1,974	—	7,70	
1. II.	—	—	—	19,405	—	2,532	—	
2. II.	6,47	45,374	22,687	—	2,946	—	(7,70)	

Tabelle IV. (Fortsetzung).

Datum 1924	Getrocknete Kotmenge g	Gefundene Eisenmenge mg	Eisenmenge pro Tag pro Tier mg	Mittelwert mg	Eisenmenge pro Tag pro Kilo mg	Mittelwert mg	Körpergewicht kg	Bemerkungen
3. II.	—	—	—	—	—	—	—	
4. II.	—	—	—	—	—	—	—	
5. II.	8,50	90,347	30,116	—	3,911	—	(7,70)	
6. II.	13,85	53,625	53,625	—	6,964	—	7,70	
7. II.	—	—	—	—	—	—	—	
8. II.	—	—	—	—	—	—	—	
9. II.	—	—	—	—	—	—	—	
10. II.	—	—	—	—	—	—	—	
11. II.	7,56	112,626	22,525	—	2,925	—	(7,70)	
12. II.	—	—	—	—	—	—	7,70	12. II. 1 g Ferr. carb. sacch. per os gegeben
13. II.	4,71	121,505	60,753	—	4,978	—	(7,70)	
14. II.	—	—	—	—	—	—	—	
15. II.	—	—	—	—	—	—	—	
16. II.	—	—	—	—	—	—	—	
17. II.	5,91	35,507	8,877	—	1,160	—	(7,65)	
18. II.	—	—	—	—	—	—	7,65	
19. II.	4,48	20,913	10,457	—	1,376	—	(7,60)	
20. II.	1,50	1,752	1,752	—	0,234	—	7,50	Hunger
21. II.	0,87	0,742	0,742	1,247	0,099	0,167	(7,50)	"
28. II.	3,72	3,987	3,987	—	0,528	—	(7,55)	Seit 22. II. mit eisenarmer Nahrung gefüttert
29. II.	—	—	—	—	—	—	—	
1. III.	—	—	—	—	—	—	7,80	
2. III.	10,22	13,981	4,660	4,751	0,594	0,604	(7,85)	
3. III.	4,59	4,847	4,847	—	0,614	—	(7,90)	
4. III.	—	—	—	—	—	—	—	
5. III.	8,49	10,443	5,222	—	0,653	—	(8,00)	
6. III.	1,94	3,705	3,705	—	0,457	—	(8,10)	Hunger

durch einzelne Organe anders als beim männlichen Geschlecht ist. Hierzu kam noch, daß während des Spazierenführens im Institutsgarten (am 20. Januar 1924) das Tier von einem männlichen Spielkameraden geschwängert wurde. Bei der Sektion fanden sich drei Föten. Sodann war das Tier einerseits periodenweise mit Durchfällen behaftet, andererseits so verstopft, daß die Kotgewinnung Schwierigkeiten bereitete.

Ein ganz anderes Bild bietet der männliche Hund 2. Die Ergebnisse der Eisenstoffwechselversuche bringe ich in Tabellen V und VI.

Vor der Entmilzung schied der Hund in der Periode eisenarmer Ernährung durchschnittlich täglich **0,459** mg bzw. pro Kilogramm Körpergewicht **0,609** mg Eisen aus. Dem steht nach der Entmilzung gegenüber ein Mittelwert der täglichen Eisenausscheidung von **14,431** mg bzw. pro Kilogramm Körpergewicht von **1,265** mg. Die Unterschiede sind so auffallend große, daß man kaum umhin kann, die sehr viel

Tabelle V.

Hund 2. ♂. Vor der Entmilzung.

Datum 1923	Getrocknete Kotmenge g	Gefundene Eisenmenge mg	Eisenmenge pro Tag pro Tier mg	Mittelwert mg	Eisenmenge pro Tag pro Kilo mg	Mittelwert mg	Körpergewicht kg	Bemerkungen
7. X.	—	—	—	—	—	—	10,50	Seit 3. X. mit eisenarmer Nahrung gefüttert
8. X.	—	—	—	—	—	—	—	
9. X.	11,22	15,054	5,018	—	0,478	—	(10,50)	
10. X.	—	—	—	—	—	—	—	
11. X.	15,19	13,863	6,932	—	0,660	—	(10,50)	
12. X.	11,62	9,340	9,340	6,459	0,893	0,609	10,50	
13. X.	—	—	—	—	—	—	—	
14. X.	17,86	15,185	7,593	—	0,710	—	(10,70)	
15. X.	—	—	—	—	—	—	—	
16. X.	10,67	11,152	5,576	—	0,512	—	10,90	
4. XI.	—	—	—	—	—	—	11,00	Seit 26. X. 330 g Pferdefleisch (pro Tag) gegeben
5. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
6. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
7. XI.	12,74	39,640	9,910	—	0,877	—	(11,30)	
8. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
9. XI.	—	—	—	—	—	—	11,50	
10. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
11. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
12. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
13. XI.	15,73	61,075	10,179	—	0,835	—	(11,50)	
14. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
15. XI.	—	—	—	—	—	—	11,50	
16. XI.	11,80	49,148	16,383	—	1,425	—	(11,50)	
17. XI.	—	—	—	15,793	—	1,374	—	
18. XI.	17,92	42,283	21,142	—	1,838	—	(11,50)	
19. XI.	—	—	—	—	—	—	11,52	
20. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
21. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
22. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
23. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
24. XI.	32,15	154,419	25,737	—	2,232	—	(11,53)	
25. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
26. XI.	—	—	—	—	—	—	11,55	
27. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
28. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
29. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
30. XI.	—	—	—	—	—	—	—	
1. XII.	—	—	—	—	—	—	—	
2. XII.	31,51	111,424	13,928	—	1,211	—	(11,50)	
3. XII.	2,67	6,936	6,936	—	0,611	—	(11,35)	Hunger
4. XII.	3,83	13,146	13,146	10,041	1,174	0,893	(11,20)	„ Entmilzung

größere Eisenausscheidung in ursächlichen Zusammenhang mit dem Fehlen der Milz zu bringen.

Vor der Entmilzung betrug während der Fütterung mit Fleisch der Mittelwert der täglichen Eisenausscheidung 15,793 mg bzw. pro Kilogramm Körpergewicht 1,374 mg. Nach der Entmilzung fand ich

Tabelle VI.

Hund 2 ♂. Nach der Entmilzung.

Datum 1923—1924	Getrocknete Kotmenge g	Gefundene Eisenmenge mg	Eisenmenge pro Tag pro Tier mg	Mittelwert mg	Eisenmenge pro Tag pro Kilo mg	Mittelwert mg	Körpergewicht kg	Bemerkungen
12. XII.	—	—	—	—	—	—	—	Seit 7. XII. mit
13. XII.	—	—	—	—	—	—	11,05	eisenarmer Nahrung ge-
14. XII.	11,25	24,456	8,152	—	0,734	—	(11,10)	füttert
15. XII.	5,18	11,497	11,497	—	1,031	—	(11,15)	
16. XII.	8,34	13,963	13,963	—	1,247	—	(11,20)	
17. XII.	—	—	—	—	—	—	11,25	
18. XII.	13,57	40,922	20,461	—	1,811	—	(11,30)	
19. XII.	—	—	—	—	—	—	—	
20. XII.	—	—	—	—	—	—	—	
21. XII.	—	—	—	14,431	—	1,265	—	
22. XII.	15,49	69,841	17,460	—	1,532	—	11,40	
23. XII.	5,28	11,044	11,044	—	0,960	—	(11,50)	
24. XII.	4,90	10,689	10,689	—	0,930	—	(11,50)	
29. XII.	—	—	—	—	—	—	11,90	
30. XII.	—	—	—	—	—	—	—	
31. XII.	8,59	45,389	15,130	—	1,312	—	(11,80)	
1. I.	4,31	14,144	14,144	—	1,199	—	(11,80)	
2. I.	6,75	17,824	17,824	—	1,511	—	(11,80)	
3. I.	—	—	—	—	—	—	—	Hunger
4. I.	6,32	39,655	19,828	—	1,782	—	11,15	„
5. I.	—	—	—	16,067	—	1,438	—	„
6. I.	7,23	25,789	12,895	—	1,093	—	10,80	„
11. I.	—	—	—	—	—	—	11,10	Seit 7. I. 330 g
12. I.	—	—	—	—	—	—	—	Fleisch (pro
13. I.	—	—	—	—	—	—	—	Tag) gegeben
14. I.	—	—	—	—	—	—	11,35	
15. I.	13,38	79,092	15,813	17,930	1,400	1,590	(11,30)	
16. I.	—	—	—	—	—	—	—	
17. I.	—	—	—	—	—	—	—	
18. I.	10,90	64,349	21,450	—	1,907	—	11,25	
22. I.	5,91	38,898	38,898	38,898	3,569	3,569	(10,90)	2. Hungertag
23. I.	—	—	—	—	—	—	10,80	330 g Pferde-
24. I.	—	—	—	—	—	—	—	fleisch (proTag)
25. I.	15,39	47,330	15,777	—	1,421	—	(11,10)	gegeben
26. I.	—	—	—	—	—	—	—	
27. I.	—	—	—	—	—	—	—	
28. I.	—	—	—	—	—	—	11,40	
29. I.	—	—	—	—	—	—	—	
30. I.	15,15	83,803	16,761	—	1,477	—	(11,35)	
31. I.	7,69	29,356	29,356	—	2,598	—	(11,30)	
1. II.	—	—	—	17,405	—	1,527	11,30	
2. II.	4,71	41,280	20,640	—	1,805	—	(11,30)	
3. II.	—	—	—	—	—	—	—	
4. II.	—	—	—	—	—	—	—	
5. II.	10,13	69,935	21,978	—	1,954	—	(11,25)	
6. II.	—	—	—	—	—	—	11,25	
7. II.	—	—	—	—	—	—	—	

Tabelle VI. (Fortsetzung.)

Datum 1924	Getrocknete Kotmenge g	Gefundene Eisenmenge mg	Eisenmenge pro Tag pro Tier mg	Mittelwert mg	Eisenmenge pro Tag pro Kilo mg	Mittelwert mg	Körpergewicht kg	Bemerkungen
8. II.	—	—	—	—	—	—	—	
9. II.	—	—	—	—	—	—	—	
10. II.	—	—	—	—	—	—	—	
11. II.	49,89	80,302	13,384	—	1,120	—	(11,15)	
12. II.	—	—	—	—	—	—	11,10	Hunger
13. II.	30,32	75,285	37,643	37,643	3,454	3,454	(10,90)	„

15. II. 10,70 seziert.

in einer ersten Periode der Fleischfütterung die Werte **17,930** mg bzw. **1,590** mg, in einer zweiten Periode **17,405** mg bzw. **1,527** mg.

Überaus deutlich sind die Unterschiede in den Hungerperioden. Vor der Entmilzung war der Mittelwert der täglichen Eisenausscheidung **10,041** mg bzw. **0,893** mg pro Kilogramm Körpergewicht. Nach der Entmilzung schied der Hund in einer ersten Hungerperiode täglich **16,067** mg bzw. **1,438** mg pro Kilogramm Körpergewicht, in einer zweitägigen Hungerperiode am Schluß des Versuchs pro Tag **37,643** mg bzw. **3,454** mg pro Kilogramm Körpergewicht. Diese Hungerperiode folgte auf reichliche Fleischernährung.

Wie klar und beweisend das Ergebnis ist, geht auch aus der Tatsache hervor, daß die Größe der Eisenausscheidung genau der zurzeit bestehenden Ernährungsart entspricht. Sowohl vor wie nach Entmilzung ist die Eisenausscheidung am kleinsten bei hinreichender Ernährung mit eisenarmer Nahrung, sie ist größer im Hungerzustande, wobei der Unterschied nach Entmilzung noch größer ist. Dies steht im Einklang mit der Lehre von *Asher*, daß die Milz besonders das durch Zerfall im Körper frei werdende Eisen zurückzuhalten bestimmt sei. Die auffallend große Eisenausscheidung, welche ich in den späteren Hungerversuchen nach Entmilzung beobachtete, erklärt sich einfach aus der Ernährungslage. Denn diese Versuche fanden im Anschluß an eine reiche Eiweißernährung statt, so daß in den ersten darauf folgenden Hungertagen der Zerfall von Körpersubstanz nach den anerkannten Gesetzen des Eiweißstoffwechsels besonders groß sein mußte.

Ich komme daher zu dem Ergebnis, daß in reinen Fällen, wo nicht bekannte oder noch unbekannte Komplikationen, die zum Teil physiologisch bedingt sind, hinzutreten, die Entfernung der Milz von einer Vergrößerung der Eisenausscheidung gefolgt ist, und ich erblicke in dem Ausfall des Versuchs an Hund 2 eine Bestätigung der *Asher*schen Lehre von der Rolle der Milz im Eisenstoffwechsel. Es schien an-

gebracht, mit Hilfe der histologischen Untersuchung auf etwaige Unterschiede zwischen Hund 1 und 2 zu fahnden. Herr Prof. Dr. *Wegelin*, Direktor des pathologisch-anatomischen Instituts, hatte die Güte, für welche ich ihm auch an dieser Stelle sehr danke, die histologische Untersuchung von Dünndarm, Dickdarm, Niere, Leber, Lymphdrüsen und Knochenmark durchzuführen. Aus dem Bericht sind folgende Punkte von Interesse: In den Nierenepithelien von Hund 1, der ja keine vermehrte Eisenausscheidung nach der Milzexstirpation gezeigt hatte, kein Hämosiderin, während bei Hund 2 feine Eisenablagerungen in den Zellen der Hauptstücke und in den Membranae propriae sich vorfanden. Es steht dies im Einklang mit den Befunden von *Chevalier* und *Lepehne*. Der Gehalt der *Kupffer*schen Sternzellen in der Leber an eisenhaltigem Pigment ist bei Hund 1 eher etwas größer als bei Hund 2. Dies spräche für die Möglichkeit, daß der reticulo-endotheliale Apparat des Hundes 1 nach der Milzexstirpation besser für die fehlende Milz eintreten konnte als derjenige an Hund 2. Ich bemerke noch, daß bei beiden Hunden Nebenmilzen fehlten.

Zusammengefaßt sind die Ergebnisse meiner Arbeit die nachfolgenden:

1. Mit Hilfe der Eisenbestimmung durch *Jahns* Titanmethode konnte gezeigt werden, daß bei hinreichender eisenarmer Ernährung die tägliche Eisenausscheidung minimale Werte erreicht, während im Hungerzustande, wo Körpersubstanz zerfällt, dieselbe viel größer ist.

2. Nach Milzexstirpation ist in reinen Fällen die Eisenausscheidung sowohl bei eisenarmer Ernährung wie im Hunger, wie auch nach Fleischernährung gesteigert.

3. Das Nichteintreten einer gesteigerten Eisenausscheidung nach Milzexstirpation ließ sich durch Umstellung der Regulationsmechanismen erklären, wofür auch histologische Anhaltspunkte sich vorfanden.

4. Die mitgeteilten Befunde stehen im Einklang mit *Ashers* Lehre von der Rolle der Milz im Eisenstoffwechsel.

Untersuchungen über den Einfluß einzelner Bestandteile der Ringerlösung auf die Wirkung von Hormonen.

Von

Giuseppe Medici.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 29. Juli 1924.)

Das Problem der Erregung und Hemmung hat durch zwei neue Gesichtspunkte, namentlich nach der methodologischen Seite, Fortschritte erfahren, der eine ist der Einfluß von Hormonen, der andere der Einfluß einzelner Kationen bzw. der Einfluß des Kationenmilieus auf das Zustandekommen von Erregung und Hemmung.

Unter den Arbeiten, welche in diesem Sinne an der Aufklärung des genannten Problems sich beteiligten, spielt die aus dem Berner physiologischen Institut hervorgegangene von *Roy Gentry Pearce*[1]) eine gewisse Rolle. Derselbe fand einmal, daß, wenn er das *Laewen-Trendelenburg*sche Präparat mit reiner Kochsalzlösung durchströmte, das Adrenalin in keiner Dosis mehr gefäßverengernd wirkte. Vielmehr zeigte sich in gewissen Fällen gelegentlich Gefäßerweiterung. *Pearce* nahm an, daß es sich um eine sogenannte Umkehr handle, die unter der geänderten physikalisch-chemischen Flüssigkeit zustande käme.

Da ein wesentlicher Unterschied in der Zusammensetzung der Ringer- und der reinen Kochsalzlösung in dem Fehlen von Calciumionen lag, glaubte *Pearce* das Hauptgewicht auf das Fehlen der Calciumionen legen zu müssen. Es bestehen natürlich noch andere Unterschiede, so das Fehlen von Natriumcarbonat, welches zur Pufferung dient, und das Fehlen von Kalium, dessen hohe Bedeutung wir durch die grundlegenden Arbeiten von *Zwaardemaker* erkannt haben.

Aber Calcium stand doch zur Zeit der *Pearce*schen Arbeit im Vordergrund des Interesses, weil biologische Erscheinungen, die eine gewisse Verwandtschaft mit den von *Pearce* untersuchten haben, gerade in Abwesenheit und Anwesenheit von Calcium zum Ausdruck gelangen.

---

[1]) *Roy Gentry Pearce*, Zeitschr. f. Biol. 62, 292, 1913.

Ich erwähne hier nur die von *Jacques Loeb* zuerst beobachtete hohe Erregbarkeit des Muskels in reiner Kochsalzlösung, die sofort durch ausschließlichen Zusatz von Calciumionen beruhigt wird. Ganz ähnlich verhält es sich mit der von *Carslaw, Locke* und *Harvey Cushing* untersuchten Aufhebung der indirekten Erregbarkeit in reiner Kochsalzlösung, die durch eine geringfügige Menge von Calciumionen wiederhergestellt wird.

Die andere wichtige Beobachtung von *Roy Gentry Peárce* bestand darin, daß bei Beginn der Degeneration der Nerven die Wirksamkeit des Adrenalins herabgesetzt wurde, ja sogar bei schwächeren Konzentrationen eine Umkehr der Wirkung eintreten konnte. Bei der großen theoretischen und praktischen Bedeutung der Umkehrphänomene ist dieselbe wiederholt im Berner physiologischen Institut Gegenstand der Untersuchung gewesen, insbesondere durch *Backmann*[1]).

Backmann fand, daß die Umkehrwirkung nur zu erzielen war, wenn man käufliche Adrenalinlösungen benutzte; wenn jedoch reines Adrenalin in Substanz zur Herstellung der für den jeweiligen Versuch frisch bereiteten Lösung diente, dann kam es wohl bei geeigneten Versuchsbedingungen zur völligen Aufhebung der Adrenalinwirkung, nicht aber zur Umkehr. Auf diese Weise gelangte *Backmann* zu dem Schluß, daß der Zusatz von Chloreton zu den käuflichen Adrenalinlösungen die Gefäßerweiterung herbeiführte, und er sicherte diesen Schluß, indem er zeigte, daß sehr verdünnte Chloretonlösungen ohne Adrenalin Gefäßerweiterungen veranlaßten. Seither ist öfters im Berner physiologischen Institut die Gelegenheit wahrgenommen worden, auf etwaige Gefäßerweiterung schwächster Adrenalindosen zu achten, aber stets wurde dieselbe bei Benutzung von Adrenalinum purum, wie es beispielsweise von der Gesellschaft für chemische Industrie in Basel hergestellt wird, vermißt.

In neuerer Zeit hat sich *Albert K. E. Schmidt*[2]) im Heidelberger pharmakologischen Institut mit der Bedeutung der Bestandteile der Ringerlösung für die Erregung der Gefäßerregbarkeit überlebender Organe befaßt. Er kommt auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß der stärkste Einfluß auf die Adrenalinempfindlichkeit dem Gehalte an OH-Ionen in der *Ringer*schen Lösung zukommt, und daß darin die Bedeutung des Gehaltes der *Ringer*schen Lösung an Natriumbicarbonat für die Erhaltung der Vasomotorenerregbarkeit der durchströmten Gefäße liege. Das bloße Fehlen von Calcium bewirkt nach *Schmidt* eine Steigerung der Adrenalinempfindlichkeit, während die Vermehrung der Calciumionen eine Abnahme der Adrenalinempfindlichkeit des gefäßverengenden Apparates zur Folge hat. Die Untersuchung von *Schmidt* trägt dadurch, daß sie jeden einzelnen Bestandteil der Ringerlösung in seiner Wertigkeit untersucht, neue Gesichtspunkte in die Fragestellung hinein.

Ich folgte daher der Anregung von Prof. *Asher*, am *Laewen-Trendelenburg*schen Präparat nochmals unter Berücksichtigung von *Schmidts* Ergebnissen den Einfluß von Calciummangel und Natriumbicarbonatmangel, getrennt voneinander, auf die Wirksamkeit von Adrenalin, Hypophysenextrakt und Ergotamin zu prüfen.

---

[1]) *R. Backmann*, Zeitschr. f. Biol. **67**, 307, 1917.

[2]) *Albert K. E. Schmidt*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **89**, 144, 1921.

Die von mir benutzte Methode war die im Berner physiologischen Institut übliche Anwendungsweise der *Laewen-Trendelenburg*schen Methode des Froschpräparates. Nur in bezug auf die Registrierung bediente ich mich eines von dem bisherigen abweichenden Verfahrens, indem ich nicht mehr die elektrische Signalisierung der fallenden Tropfen brauchte, sondern, wie es von *W. Straub* vorgeschlagen worden ist, einen sehr leicht konstruierten doppelarmigen Hebel. Derselbe trug an dem einen Ende ein leichtes, schräggestelltes Deckgläschen, auf welches die aus der Venenkanüle ausfallenden Tropfen auffielen und dadurch den Hebel in Bewegung setzten, so daß die an dem anderen Ende des Hebels befindliche Schreibspitze auf dem Kymographion die Tropfenzahl registrierte. Für passende Dämpfung muß durch eine leicht sich spannende Gummischleife Sorge getragen werden. Unter der Kurve der Tropfenzahl wurde die Zeit registriert und eine Geschwindigkeit der Trommel benutzt, daß die Auszählung der Tropfenzahl keine Mühe machte.

Auf einem Gestell befanden sich mehrere *Mariotte*sche Flaschen, welche die verschiedenen Lösungen enthielten. Die Glasverbindungen waren dergestalt, daß eine rasche Auswechslung der verschiedenen Flüssigkeiten möglich war.

Die Injektion der zu prüfenden Giftlösungen fand dicht vor der Aortenkanüle statt. Alle angewandten Salzlösungen wurden mit chemisch reinen, von *Kahlbaum* bezogenen Stoffen hergestellt.

Ich verwandte die nachfolgenden Lösungen:

1. Die normale Ringerlösung, NaCl 0,65, $NaHCO_3$ 0,1, KCl 0,01, $CaCl_2$ 0,02;
2. eine Lösung derselben Zusammensetzung, aber mit Weglassung des Calciumchlorids;
3. eine Lösung der gleichen Zusammensetzung, aber mit Weglassung des Natriumbicarbonats;
4. eine reine Kochsalzlösung.

Die angewandten pharmakologischen Stoffe waren Adrenalin, und zwar Adrenalinlösungen, die jederzeit frisch aus Adrenalinum purum der Gesellschaft für chemische Industrie in Basel hergestellt wurden, Pituitrin von Parke Davis & Co., Ergotamin von Sandoz & Co., Basel, und Bariumchlorid.

Die erste Reihe meiner Versuche befaßt sich mit der Wirkung von Adrenalin bei Perfusion mit normaler Ringerlösung, mit calciumchloridfreier Ringerlösung, mit natriumbicarbonatfreier Lösung und mit reiner Kochsalzlösung.

Im Versuch vom 4. November 1921 verglich ich zuerst den Wechsel zwischen normaler Ringerlösung und calciumfreier Ringerlösung. Dieser Wechsel hatte keinen in Betracht fallenden Unterschied zur Folge.

Versuch vom 4. November 1921.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	Tropfenzahl pro Minute vor dem Eingriff	Tropfenzahl pro Minute nach dem Eingriff	Bemerkungen
1	4h 10′	Normale Ringerlösung	—	60	—	Durchspülung mit normaler Ringerlösung 20 Minuten lang
2	4 40	$CaCl_2$-freie „	—	57	—	
3	5 22	Normale „	Adrenalin 1 : $^1/_2$ Mill.	57	8	
4	6 05	„ „	„ 1 : 1 „	57	5	Diese Zahlen beziehen sich auf dieselbe Injektion, die um 6h 05′ gemacht worden ist
5	6 20	„ „	„ 1 : 1 „	—	3	
6	6 35	„ „	„ 1 : 1 „	—	6	
7	6 50	„ „	„ 1 : 1 „	—	10	

NB.: Es wurde bei jedem Versuch 1 ccm der zu prüfenden Giftlösung injiziert.

In diesem ersten Versuch ergab die Injektion von 1 ccm Adrenalinlösung 1 : 1000000 eine Verminderung der Tropfenzahl pro Minute von 57 auf nur 5 bzw. 3 in der Minute, also eine maximale Verengerung der Gefäße.

Versuch vom 8. November 1921.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	Tropfenzahl pro Minute vor dem Eingriff	Tropfenzahl pro Minute nach dem Eingriff	Bemerkungen
1	3h 18′	Normale Ringerlösung	Adrenalin 1 : 5 Mill.	60	47	
2	3 33	„ „	„ 1 : 1 „	—	13	
3	3 42	„ „	„ 1 : 1 „	—	24	Durchspülung mit $CaCl_2$-freier Ringerlösung 20 Minuten lang
4	4 15	$CaCl_2$-freie „	„ 1 : $^1/_2$ „	60	4	
5	4 25	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : $^1/_2$ „	—	2	
6	4 36	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : $^1/_2$ „	—	8	
7	4 48	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : $^1/_2$ „	—	16	Dasselbe
8	5 00	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : 1 „	—	58	

Im Versuch vom 8. November 1921 bewirkte während Perfusion mit normaler Ringerlösung eine Injektion von 1 ccm Adrenalinlösung 1 : 1000000 eine Herabsetzung der Tropfenzahl von 60 in der Minute auf im Maximum 13 Tropfen. Sodann wurde 20 Minuten mit calciumfreier Ringerlösung transfundiert, hier mußte eine Lösung 1 : 500000 angewandt werden, um maximale Gefäßkontraktionen zu erhalten, die dann allerdings noch höhere Beträge erreichen konnten als vorher. Aber mit der Verdünnung 1 : 1000000 erhielt ich keine Vasokonstriktion. Demnach hatte ich mit diesem Versuch die Transfusion mit calciumfreier Ringerlösung, trotz des Vorhandenseins von Natriumbicarbonat, eine Herabsetzung der Adrenalinempfindlichkeit bewirkt.

Aber es handelte sich nur um eine Herabsetzung, unzweifelhaft ist, trotz vollständigen Fehlens des Calciums, eine sehr starke Wirkung

des Adrenalins vorhanden. Das gleiche lehrten mich auch andere Versuche, beispielsweise der Versuch vom 11. November 1921.

Versuch vom 11. November 1921.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	Tropfenzahl pro Minute vor dem Eingriff	Tropfenzahl pro Minute nach dem Eingriff	Bemerkungen
1	5h 00'	$CaCl_2$-freie Ringerlösg.	—	—	46	
2	5 09	$CaCl_2$- " "	Adrenalin 1 : 5 Mill.	46	5	
3	5 16	$CaCl_2$- " "	" 1 : 5 "	—	2	
4	5 24	$CaCl_2$- " "	" 1 : 5 "	—	4	
5	5 41	$CaCl_2$- " "	" 1 : 5 "	—	8	
6	6 20	$CaCl_2$- " "	" 1 : 10 "	42	36	
7	6 35	$CaCl_2$- " "	" 1 : 1 "	48	5	
8	6 42	$CaCl_2$- " "	" 1 : 1 "	—	3	
9	6 50	$CaCl_2$- " "	" 1 : 1 "	—	6	

Hier erfolgte nach Transfusion mit calciumfreier Ringerlösung eine Verminderung der Tropfenzahl nach Injektion von Adrenalinlösung 1 : 5000000 von 48 bis auf 8, ja sogar 2 Tropfen in der Minute.

Selbst bei einer Verdünnung 1 : 10000000 gab es eine Verminderung der Tropfenzahl von 42 bis auf 36. Nach länger dauernder Transfusion mit calciumfreier Ringerlösung mußte ich die Konzentration der Adrenalinlösung auf 1 : 1000000 erhöhen, um Verminderung der Tropfenzahl von 48 auf 3 in der Minute zu erhalten.

Der Versuch vom 15. November diente nochmals zur genaueren Prüfung der Frage, ob Mangel an Calcium die Adrenalinempfindlichkeit sogar zu erhöhen vermöge.

Versuch vom 15. November 1921.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	Tropfenzahl pro Minute vor dem Eingriff	Tropfenzahl pro Minute nach dem Eingriff	Bemerkungen
1	11h 50'	Normale Ringerlösung	Adrenalin 1 : 10 Mill.	58	30	
2	12 15	" "	" 1 : 5 "	55	22	
3	2 28	" "	" 1 : 1 "	50	5	
4	3 35	$CaCl_2$-freie "	" 1 : 10 "	48	45	Durchspülung mit $CaCl_2$-freier Ringerlösung 20 Minuten lang
5	3 48	$CaCl_2$- " "	" 1 : 5 "	—	15	
6	4 10	$CaCl_2$- " "	" 1 : 1 "	30	8	
7	4 25	$CaCl_2$- " "	" 1 : 1 "	—	3	

Meine bisherigen Versuche hatten zwar ergeben, daß, wenn mit calciumfreier Ringerlösung transfundiert wird, die Adrenalinempfindlichkeit erhalten bleibt, nicht aber daß sie gesteigert wird.

Der genannte Versuch ergibt nun keinen Anhaltspunkt für eine Steigerung der Adrenalinempfindlichkeit, man könnte aus den vorliegenden Zahlen sogar eine Herabsetzung der Adrenalinempfindlichkeit

ableiten. Doch könnten die Unterschiede auf unvermeidlichen Schwankungen der Erregbarkeit der Gefäße beruhen.

Der nächste Versuch vom 16. November diente zur Prüfung der Frage, ob die natriumbicarbonatfreie Ringerlösung die Wirksamkeit von Adrenalin aufhebe oder vermindere.

Versuch vom 16. November 1921.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	Tropfenzahl pro Minute vor dem Eingriff	Tropfenzahl pro Minute nach dem Eingriff	Bemerkungen
1	4h 25′	$NaHCO_3$-freie Ringerlsg.	—	60	—	
2	4 35	$NaHCO_3$- „ „	Adrenalin 1 : 10 Mill.	59	59	
3	5 05	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 10 „	42	40	
4	5 25	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 5 „	41	35	
5	5 55	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 1 „	41	29	
6	6 04	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 1 „	—	7	
7	6 12	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 1 „	—	6	

Nun zeigt sich in entscheidender Weise in diesem Versuch, daß dies nicht der Fall ist. Trotzdem das Präparat von 4 Uhr 25 Min. bis 6 Uhr 12 Min. ununterbrochen mit natriumbicarbonatfreier Ringerlösung durchströmt wird, bewirkt eine Adrenalinlösung 1 : 1000000 eine Herabsetzung der Tropfenzahl von 41 bis auf 6.

Der Versuch vom 17. November 1921 diente dem Vergleich der Adrenalinempfindlichkeit bei Perfusion mit natriumbicarbonatfreier Ringerlösung und mit calciumchloridfreier Ringerlösung. Beide Perfusionslösungen hoben die Adrenalinwirksamkeit nicht auf.

Versuch vom 17. November 1921.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	Tropfenzahl pro Minute vor dem Eingriff	Tropfenzahl pro Minute nach dem Eingriff	Bemerkungen
1	11h 45′	$NaHCO_3$-freie Ringerlsg.	Adrenalin 1 : 10 Mill.	60	60	
2	11 58	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 5 „	57	57	
3	12 09	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 1 „	54	38	
4	2 39	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : ½ „	54	24	
5	2 52	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : ½ „	—	13	
6	4 12	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : 10 „	31	26	Durchspülung mit $CaCl_2$-freier Ringerlösung etwa 40 Minuten
7	4 40	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : 5 „	25	23	
8	4 54	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : 1 „	23	5	
9	5 00	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : 1 „	—	9	

Die in diesem Versuch erhaltenen Zahlen erwecken allerdings den Eindruck, daß das Fehlen von Natriumbicarbonat die Adrenalinempfindlichkeit mehr herabsetze, denn ich mußte schließlich Lösungen von 1 : ½ Million anwenden, um Verminderung der Tropfenzahl von 54 auf 13 zu erhalten.

Ein ähnliches Resultat ergibt auch der Versuch vom 18. November.

Versuch vom 18. November 1921.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	Tropfenzahl pro Minute vor dem Eingriff	Tropfenzahl pro Minute nach dem Eingriff	Bemerkungen
1	9h 45'	$CaCl_2$-freie Ringerlösg.	Adrenalin 1 : ½ Mill.	30	3	
2	10 00	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : ½ „	—	2	
3	10 15	$NaHCO_3$-freie „	„ 1 : 10 „	42	42	
4	10 30	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 10 „	48	48	
5	10 43	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 5 „	48	48	
6	10 58	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 1 „	53	38	
7	11 20	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : ½ „	42	8	
8	11 30	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : ½ „	—	½	

In diesem Versuch wurde zuerst mit calciumfreier Ringerlösung perfundiert, wobei eine Verminderung der Tropfenzahl mit einer Adrenalinlösung 1 : 500000 von 30 auf 2 Tropfen erzielt wurde; nach einer Durchströmung mit einer bicarbonatfreien Ringerlösung von 10 Uhr 15 Min. bis 11 Uhr 30 Min. bewirkte eine Adrenalinlösung 1 : 500000 eine Herabsetzung der Tropfenzahl von 42 auf ½ pro Minute.

Anders verlaufen die Dinge, wenn mit einer reinen Kochsalzlösung, der also alle anderen Bestandteile der Ringerlösung fehlen, längere Zeit perfundiert wird.

Ich habe die Befunde von *Pearce* und *Streuli* durchaus bestätigen können. Wird lange genug mit reiner Kochsalzlösung perfundiert, so klingt die Adrenalinwirkung mehr und mehr ab. Wie lange man perfundieren muß, hängt von individuellen Faktoren ab, die noch nicht klargelegt worden sind.

Als erstes Beispiel teile ich einen Versuch vom 18. November mit.

Versuch vom 18. November 1921.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	Tropfenzahl pro Minute vor dem Eingriff	Tropfenzahl pro Minute nach dem Eingriff	Bemerkungen
1	3h 43'	0,6 proz. reine NaCl-Lösg.	—	32	—	
2	4 00	0,6 „ „ NaCl- „	Adrenalin 1 : 10 Mill.	32	27	
3	4 25	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 5 „	44	19	
4	4 55	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 1 „	45	3	
5	5 04	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 1 „	—	1	
6	5 27	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : ½ „	34	3	
7	5 42	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : ½ „	—	15	

Die Perfusion mit 0,6 proz. Kochsalzlösung begann um 3 Uhr 43 Min.; 5 Uhr 27 Min. erfolgte bei Injektion einer Adrenalinlösung 1 : 500000 eine Herabsetzung der Tropfenzahl von 34 auf 3; 5 Uhr 42 Min. bewirkte

dieselbe Lösung nur eine Verminderung bis auf 15 Tropfen in der Minute. Bis zu einer vollständigen Aufhebung der Adrenalinwirksamkeit kam es in diesem Versuch nicht.

Hingegen ist das der Fall in dem Versuchsbeispiel vom 22. November 1921.

Versuch vom 22. November 1921.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	Tropfenzahl pro Minute vor dem Eingriff	Tropfenzahl pro Minute nach dem Eingriff	Bemerkungen
1	3h 31′	0,6 proz. reine NaCl-Lösg.	Adrenalin 1 : 10 Mill.	54	38	
2	3 48	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 5 „	54	40	
3	4 00	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 1 „	48	3	
4	4 26	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 1/2 „	48	4	
5	4 45	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 10 „	54	51	
6	4 55	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 5 „	52	43	
7	5 10	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 1 „	56	11	
8	5 30	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 1/2 „	48	12	
9	5 51	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 5 „	48	38	
10	6 07	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 1 „	50	30	
11	6 30	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 1/2 „	54	53	
12	6 45	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 1/2 „	48	48	Keine Wirkung mehr
13	7 03	$CaCl_2$-freie Ringerlösg.	„ 1 : 5 „	36	21	
14	7 14	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : 1 „	49	20	
15	7 25	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : 1/2 „	49	5	

Die Perfusion mit 0,6 proz. reiner Kochsalzlösung begann 3 Uhr 31 Min., allmählich klingt die Wirkung des Adrenalins ab, und bei Injektion einer Lösung 1 : 500000 um 6 Uhr 30 Min. und um 6 Uhr 45 Min. tritt keine Wirkung mehr ein. 7 Uhr 3 Min. wird mit Transfusion einer calciumfreien Ringerlösung begonnen und sofort kehrt die Erregbarkeit für Adrenalin wieder, und 7 Uhr 25 Min. bewirkt eine Adrenalinlösung 1 : 500000 eine Verminderung der Tropfenzahl von 49 auf 5 in der Minute.

Ebenfalls im Versuch vom 23. November 1921.

Versuch vom 23. November 1921.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	Tropfenzahl pro Minute vor dem Eingriff	Tropfenzahl pro Minute nach dem Eingriff	Bemerkungen
1	3h 55′	0,6 proz. reine NaCl-Lösg.	Adrenalin 1 : 10 Mill.	42	27	
2	4 15	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 10 „	48	42	
3	4 51	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 5 „	54	52	
4	5 28	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 1 „	42	11	
5	6 00	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 1/2 „	48	45	
6	6 15	0,6 „ „ NaCl- „	„ 1 : 1/2 „	48	48	Keine Wirkung mehr
7	6 41	$NaHCO_3$-freie Ringerlsg.	„ 1 : 10 „	42	40	
8	6 51	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 5 „	48	47	

Aus diesen Versuchen geht erstens sehr klar hervor, daß durch eine reine Kochsalzlösung die Wirksamkeit des Adrenalins vermindert und schließlich aufgehoben werden kann. Zweitens geht aus den Versuchen hervor, daß die aufgehobene Adrenalinempfindlichkeit wiederkehrt, wenn eine Lösung perfundiert wird, die außer Kochsalz noch Kalium und Natriumbicarbonat, aber kein Calcium enthält.

Die Deutung, welche *Schmidt* der *Pearce*schen Entdeckung von der Aufhebung der Adrenalinanspruchsfähigkeit nach Perfusion mit reiner Kochsalzlösung gegeben hat, nämlich, daß dieselbe nicht auf Calciummangel beruht, ist zutreffend. Insofern stimmen meine Versuche mit denjenigen von *Schmidt* überein.

Hingegen bin ich zu anderen Ergebnissen wie *Schmidt* hinsichtlich der Bedeutung des Natriumbicarbonats gelangt. In denjenigen meiner Versuche, wo ich mit einer natriumbicarbonatfreien, aber Kalium und Calcium enthaltenden Lösung perfundierte, erfolgte keine Aufhebung der Anspruchsfähigkeit der Vasokonstriktoren gegenüber Adrenalin. Nur in reiner Kochsalzlösung ist dies der Fall. Es ist also weder, wie *Pearce* früher annahm, der Calciummangel, noch, wie *Schmidt* jetzt annimmt, der Hydroxylionengehalt, der durch Natriumbicarbonat erzielt wird, das Maßgebende.

Auch in einem anderen Punkte weichen meine Beobachtungen von denjenigen von *Schmidt* ab. Ich habe in keinem Falle unter den Bedingungen meiner Versuchsanordnung eine Erhöhung der Anspruchsfähigkeit der Gefäße gegen Adrenalin bei Calciummangel eintreten sehen. Die so vielfach behauptete Erregbarkeitserhöhung nervöser und muskulöser Apparate durch Calciummangel ist keinesfalls, wie vielfach angenommen wird, auf unzweideutiges Beweismaterial gestützt.

Es gibt Fälle, in denen Calciummangel in leicht erkennbarer Weise erregbarkeitserhöhend wirkt, das gilt z. B. von dem klassischen Grundversuch von *Jacques Loeb* am Musculus Sartorius. Versuche am neuromuskularen Gefäßapparat können jedoch ohne jede Änderung der Erregbarkeit, trotz ausgesprochenen Calciummangels, verlaufen.

Meine nächsten Versuche galten dem Verhalten von Hypophysenextrakt bei Perfusion mit den verschiedenen Salzlösungen. Ich benutzte hierzu zwei Präparate: Pituglandol *Hoffmann-Laroche* und Pituitrin *Parke Davis*. Dabei zeigte sich in allen Fällen, daß bei Durchströmung mit Ringerlösung Gefäßverengerung durch die Hypophysenpräparate eintrat. Die gefäßverengernde Wirkung war im allgemeinen eine viel geringere als diejenige des Adrenalins. Weglassung entweder des Calciums oder des Natriumbicarbonats verminderte die Wirksamkeit, ohne daß es zur vollständigen Aufhebung kam.

Hingegen verschwand unter dem Einfluß der Durchströmung mit reiner Kochsalzlösung die Wirkung der Hypophysenpräparate, wie es der Versuch vom 14. Dezember 1921 zeigt.

Ich lasse zur Illustrierung des Gesagten meine Versuchsprotokolle folgen. Am beweisendsten sind diejenigen Versuche, wo in ein und derselben Versuchsreihe die verschiedenen Salzlösungen miteinander verglichen werden.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	Tropfenzahl pro Minute vor dem Eingriff	Tropfenzahl pro Minute nach dem Eingriff	Bemerkungen

Versuch vom 30. November 1921.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	vor	nach	Bemerkungen
1	4h 05′	Normale Ringerlösung	Pituglandol 1 : 10 Mill.	48	36	
2	4 16	" "	" 1 : 10 "	66	53	
3	4 35	" "	" 1 : 50 "	68	62	
4	4 45	" "	" 1 : 100 "	60	58	Durchspülung mit $CaCl_2$-freier Ringerlösung
5	5 15	$CaCl_2$-freie "	" 1 : 100 "	66	63	
6	5 27	$CaCl_2$- " "	" 1 : 50 "	72	70	Leichte Zuckungen d. Froschschenkelmuskeln
7	5 36	$CaCl_2$- " "	" 1 : 10 "	66	48	
8	5 50	$CaCl_2$- " "	" 1 : 50 "	54	44	

Versuch vom 1. Dezember 1921.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	vor	nach	Bemerkungen
1	3h 02′	$CaCl_2$-freie Ringerlösg.	Pituglandol 1 : 100 Mill.	72	71	
2	3 13	$CaCl_2$- " "	" 1 : 100 "	70	70	Zucken der Froschschenkel
3	3 21	$CaCl_2$- " "	" 1 : 60 "	60	57	
4	3 34	$CaCl_2$- " "	" 1 : 50 "	66	62	
5	3 45	$CaCl_2$- " "	" 1 : 10 "	54	38	
6	4 00	Normale "	" 1 : 100 "	66	55	Durchspülung mit normaler Ringerlösung
7	4 19	" "	" 1 : 50 "	42	31	
8	4 49	" "	" 1 : 10 "	42	19	Zuckungen verschwinden
9	4 58	" "	" 1 : 10 "	—	14	
10	5 35	$NaHCO_3$-freie "	" 1 : 100 "	48	40	

Versuch vom 5. Dezember 1921.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	vor	nach	Bemerkungen
1	3h 07′	$NaHCO_3$-freie Ringerlsg.	Pituglandol 1 : 100 Mill.	72	71	
2	3 16	$NaHCO_3$- " "	" 1 : 50 "	66	66	
3	3 25	$NaHCO_3$- " "	" 1 : 10 "	66	65	
4	3 35	$NaHCO_3$- " "	" 1 : 50 "	66	66	
5	3 45	$NaHCO_3$- " "	" 1 : 100 "	66	66	
6	3 55	$NaHCO_3$- " "	" 1 : 10 "	72	70	
7	4 04	$NaHCO_3$- " "	" 1 : 100 "	66	66	
8	4 35	Normale "	" 1 : 100 "	66	54	Durchspülung mit Ringerlösung
9	4 45	" "	" 1 : 50 "	66	52	
10	4 59	" "	" 1 : 10 "	60	48	
11	5 22	$CaCl_2$-freie "	" 1 : 100 "	60	57	Durchspülung mit $CaCl_2$-freier Ringerlösung
12	5 38	$CaCl_2$- " "	" 1 : 50 "	54	50	
13	5 58	$CaCl_2$- " "	" 1 : 50 "	48	40	Leichte Zuckungen d. Froschschenkels

Versuch vom 6. Dezember 1921.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	vor	nach	Bemerkungen
1	10h 10′	Normale Ringerlösung	Pituitrin 1 : 100 Mill.	72	69	
2	10 25	" "	" 1 : 50 "	72	67	
3	10 35	" "	" 1 : 10 "	66	58	
4	10 45	" "	" 1 : 100 "	60	54	Durchspülung
5	11 16	$CaCl_2$-freie "	" 1 : 100 "	54	53	
6	11 30	$CaCl_2$- " "	" 1 : 50 "	60	58	Zuckungen des Muskels
7	11 47	$CaCl_2$- " "	" 1 : 10 "	72	51	

Versuch vom 6. Dezember 1921.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	Tropfenzahl pro Minute vor dem Eingriff	Tropfenzahl pro Minute nach dem Eingriff	Bemerkungen
1	2h 47′	$NaHCO_3$-freie Ringerlsg.	Pituitrin 1 : 100 Mill.	60	58	
2	3 02	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 50 „	72	66	
3	3 12	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 10 „	60	48	
4	3 26	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 100 „	54	48	
5	3 54	Normale „	„ 1 : 100 „	48	36	
6	4 10	„ „	„ 1 : 50 „	48	30	
7	4 30	„ „	„ 1 : 10 „	42	26	

Versuch vom 14. Dezember 1921.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	Tropfenzahl pro Minute vor dem Eingriff	Tropfenzahl pro Minute nach dem Eingriff	Bemerkungen
1	11h 35′	$CaCl_2$-freie Ringerlösg.	Pituitrin 1:100 Mill.	54	54	
2	11 45	$CaCl_2$- „ „	„ 1: 50 „	72	70	
3	11 55	$CaCl_2$- „ „	„ 1: 10 „	72	68	Durchspülung mit NaCl-Lösung von 12h 30′ an
4	12 15	0,6 proz. NaCl-Lösung	„ 1:100 „	66	60	
5	2 15	0,6 „ NaCl- „	„ 1:100 „	66	64	
6	2 35	0,6 „ NaCl- „	„ 1: 50 „	66	62	
7	3 20	0,6 „ NaCl- „	„ 1:100 „	60	58	
8	3 29	0,6 „ NaCl- „	„ 1: 50 „	66	64	
9	3 44	0,6 „ NaCl- „	„ 1: 10 „	66	66	Keine Wirkung mehr
10	3 58	0,6 „ NaCl- „	$BaCl_2$ 0,002	72	68	
11	4 07	0,6 „ NaCl- „	$BaCl_2$ 0,002	72	65	
12	4 20	0,6 „ NaCl- „	Pituglandol 1:100 „	66	64	
13	4 30	0,6 „ NaCl- „	„ 1: 50 „	66	62	
14	4 40	0,6 „ NaCl- „	„ 1: 10 „	72	67	
15	5 02	Normale Ringerlösung	„ 1:100 „	54	42	
16	5 18	„ „	„ 1: 10 „	48	34	

Versuch vom 16. Dezember 1921.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	Tropfenzahl pro Minute vor dem Eingriff	Tropfenzahl pro Minute nach dem Eingriff	Bemerkungen
1	3h 29′	Normale Ringerlösung	$BaCl_2$ 0,002	54	40	
2	3 45	„ „	$BaCl_2$ 0,002	42	34	
3	4 12	$CaCl_2$-freie „	$BaCl_2$ 0,002	54	36	Durchspülung
4	4 28	$CaCl_2$- „ „	$BaCl_2$ 0,002	42	26	
5	5 09	$NaHCO_3$-freie „	$BaCl_2$ 0,002	48	36	Durchspülung
6	5 25	$NaHCO_3$- „ „	$BaCl_2$ 0,002	42	28	
7	5 50	$NaHCO_3$- „ „	$BaCl_2$ 0,002	54	40	

Als wesentlich erscheint mir, daß auch aus dieser Versuchsreihe sich ergibt, daß Natriumbicarbonat und Calcium in bezug auf ihren Einfluß auf die Stimmung der Gefäße gegenüber Hormonen eine gewisse Ähnlichkeit besitzen, und daß erst das völlige Fehlen sowohl des Calciums als auch eines Puffersalzes die Wirksamkeit der Hormonen aufhebt.

Schließlich teile ich noch meine Ergebnisse mit Ergotamin-Sandoz mit.

Nr.	Zeit	Transfusion	Eingriff	Tropfenzahl pro Minute		Bemerkungen
				vor	nach	
				dem Eingriff		
			Versuch vom 11. Januar 1922.			
1	4h 00′	Normale Ringerlösung	Ergotamin 1 : 100 Mill.	48	42	
2	4 10	„ „	„ 1 : 50 „	48	42	
3	4 18	„ „	„ 1 : 10 „	48	42	
4	4 30	„ „	„ 1 : 100 „	48	42	
5	4 40	„ „	„ 1 : 50 „	42	38	
6	4 50	„ „	„ 1 : 10 „	48	39	
7	5 03	„ „	„ 1 : 50 „	42	37	
8	5 12	„ „	„ 1 : 100 „	36	33	
			Versuch vom 12. Januar 1922.			
1	4h 25′	$CaCl_2$-freie Ringerlösg.	Ergotamin 1 : 10 Mill.	54	50	
2	4 35	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : 5 „	54	48	
3	4 43	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : 1 „	54	48	
4	4 55	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : 10 „	54	50	
5	5 05	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : 5 „	54	48	
6	5 15	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : 1 „	54	40	
			Versuch vom 19. Januar 1922.			
1	3h 00′	$NaHCO_3$-freie Ringerlsg.	Ergotamin 1 : 100 Mill.	72	71	
2	3 10	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 50 „	72	70	
3	3 18	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 10 „	66	62	
4	3 30	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 100 „	48	46	
5	3 40	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 50 „	72	70	
6	3 48	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 10 „	48	44	
7	4 00	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 50 „	54	51	
8	4 07	$NaHCO_3$- „ „	„ 1 : 10 „	56	52	
			Versuch vom 20. Januar 1922.			
1	4h 30′	$CaCl_2$-freie Ringerlösg.	Ergotamin 1 : 100 Mill.	42	41	
2	4 40	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : 100 „	36	36	
3	4 50	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : 50 „	42	40	
4	5 00	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : 50 „	36	34	
5	5 09	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : 10 „	36	31	
6	5 16	$CaCl_2$- „ „	„ 1 : 10 „	42	38	

Schon bei Perfusion mit normaler Ringerlösung war die gefäßverengende Wirkung eine außerordentlich geringe. Es ist daher auch nicht weiter verwunderlich, daß Weglassung von entweder Natriumbicarbonat oder von Calcium an dieser geringfügigen Wirkung nichts zu ändern vermochte. Höchstens kann ein gewisser Nachdruck darauf gelegt werden, daß die Weglassung von Calcium auch nicht eine geringste Andeutung einer Erregbarkeitssteigerung zur Folge hat.

Zusammengefaßt sind die Ergebnisse meiner Arbeit die nachfolgenden:

1. Von den Bestandteilen der Ringerlösung haben sowohl das Natriumbicarbonat als auch das Calcium einen Einfluß auf die Wirksamkeit von Adrenalin auf die Gefäße. Gegenüber der Ringerlösung

ist sowohl bei Perfusion mit natriumbicarbonatfreier als auch mit calciumfreier Ringerlösung der vasokonstriktorische Effekt von Adrenalin viel geringer.

2. Es scheint, daß Natriumbicarbonat, demnach die Hydroxylionen, wie auch Calcium gleichsinnig wirken.

3. Eine erregbarkeitssteigernde Wirkung des Mangels an Calcium konnte nicht nachgewiesen werden.

4. Erst die Perfusion mit vollständig reiner Kochsalzlösung führt zur vollständigen Aufhebung der Wirkung des Adrenalins. Diese kann also nicht beruhen weder auf dem alleinigen Mangel von Hydroxylionen noch auf demjenigen der Calciumionen.

5. Hinsichtlich der Hypophysenextrakte gilt das für Adrenalin Gesagte, nur sind quantitativ die Erscheinungen weniger ausgeprägt.

Zur Biochemie der Strahlenwirkungen.

I. Mitteilung:

Der Einfluß ultravioletter und Röntgenstrahlen auf die aktuelle Blutreaktion und auf die Erregbarkeit des Atemzentrums.

Von

Christian Kroetz.

(Aus der medizinischen Klinik der Universität Greifswald.)

(Eingegangen am 30. Juli 1924.)

Die grundlegende Feststellung *Hasselbalchs*[1]), daß unter dem Einfluß der kurzwelligen Strahlen der Kohlenbogenlampe die schon vorher aus der Höhenklimaforschung bekannte[2]) Herabsetzung der CO_2-Spannung der Alveolarluft und Erhöhung der Erregbarkeit des Atemzentrums auch in der Ebene zustande kommt, hat eine Reihe von Fragestellungen nahegelegt, die auffallenderweise bis heute keine Erörterung erfahren haben.

Sie lassen sich folgendermaßen formulieren: Auf welchem Wege wird die Senkung der alveolaren Kohlensäurespannung ausgelöst? Ist sie die Folge einer primären Säuerung des Blutes unter Strahlenwirkung? Ist der auslösende Faktor in einer primären Erregbarkeitssteigerung des Atemzentrums zu suchen? Läßt sich die im Verlaufe dieser Vorgänge theoretisch zu erwartende Verschiebung der aktuellen Reaktion des Blutes mit einer der gebräuchlichen Methoden nachweisen? Wie ist das Auftreten der Erregbarkeitsänderung des Atemzentrums zu erklären?

Es wurde versucht, auf experimentellem Wege einer Beantwortung dieser Fragen näher zu kommen. Neben der im ultravioletten Bereich besonders ergiebigen Strahlung der Quecksilberdampflampe empfahl es sich, die sehr kurzwellige Strahlung des Röntgenlichtes zu den Versuchen heranzuziehen.

Methodik.

Wellenlänge der Strahlen: Das Ultraviolettlicht der Hanauer Quarzlampe und mittelhartes zinkgefiltertes Röntgenlicht, Einzelheiten in den Protokollen.

---

[1]) *Hasselbalch*, diese Zeitschr. **46**, 433, 1912.

[2]) *Hasselbalch* und *Lindhard*, Skand. Arch. f. Physiol. **25**, 361, 1911; *Durig*, *Schrötter* und *Zuntz*, diese Zeitschr. **39**, 495, 1912.

Strahlenmenge: Es wurden große Strahlungsmengen in der Absicht verwendet, deutliche Ausschläge zu erzielen. In den Lichtversuchen wurde einmal mit Eosin sensibilisiert, später wurden bei längerer Bestrahlungsdauer und verringertem Lampenabstand ähnliche Resultate ohne Sensibilisierung erreicht. Stets kam es in diesen Lichtversuchen zu erheblichem Erythem (Höhepunkt nach 12 bis 36 Stunden) und zu starker Schuppung. Bei den Röntgenversuchen wurden große Einfallsfelder, volle Hauteinheitsdosen und blutreiche Körpergegenden verwendet; in allen Fällen kam es zu deutlichen Katererscheinungen (Mattigkeit, Appetitlosigkeit, Übelkeit, jedoch niemals Erbrechen).

Versuchsobjekte: Waren in den hier berichteten Versuchen nur Menschen. Und zwar waren es in den Lichtversuchen organisch Gesunde oder fieberfreie Leichtkranke mit geringen Muskel- oder Gelenkbeschwerden. In den Röntgenversuchen standen für die großen Strahlenmengen nur Krebskranke zur Verfügung, es wurde darauf geachtet, nur solche in gutem Ernährungszustande und ohne Ödeme zu verwenden. In einem anderen Teile der Röntgenversuche, die in anderem Zusammenhang in der „Strahlentherapie" veröffentlicht werden, fanden außerdem gesunde Kaninchen und Hunde Verwendung, wie hier erwähnt sei, mit gleichartigem Ergebnis.

Versuchszeit: Morgens nüchtern erfolgte die erste Blutentnahme und die Bestimmung der zugehörigen alveolaren CO_2-Spannung; darauf wurde am nüchternen Patienten bestrahlt; sofort nach dem Ende der Bestrahlung wurde die Versuchsperson aus dem gut ventilierten Bestrahlungsraum entfernt und eine halbe bis eineinhalb Stunden später die zweite Blutentnahme und Messung der alveolaren CO_2-Spannung vorgenommen; erst hierauf durfte die bis dahin nüchterne Versuchsperson essen; auch die Untersuchungen nach 24 und 72 Stunden wurden morgens am nüchternen Patienten vorgenommen.

Kost: Um akute Verschiebungen im Mineralstoffwechsel zu vermeiden, wurden die Versuchspersonen sowohl in einer mindestens 8 Tage langen Vorperiode als während der Versuchstage bei der gewöhnlichen (gemischten) Krankenhauskost mit mäßigem Salzgehalt belassen.

Blutentnahme: 3 bis 5 ccm Blut wurden aus der nur kurz gestauten Armvene in ein Wägegläschen mit etwas Ammonoxalat aufgenommen und zur Bestimmung der CO_2-Bindungskurve beiseitegestellt. Unmittelbar anschließend wurden die nächsten 30 ccm Venenblut direkt in ein Zentrifugenglas unter Paraffinöl aufgefangen und sofort scharf zentrifugiert; nach 30 Minuten wurde das Serum unter Paraffin abgehoben und unter Paraffin im Eisschrank aufbewahrt. Die Verarbeitung des Serums wurde in den folgenden 24 Stunden beendet, die des Blutes war in den ersten 3 Stunden erfolgt.

Alveolargasanalysen: Die Bestimmungen wurden mit der *Haldane*schen Methode[1]) durchgeführt, bei Normalpersonen kann nach *Krogh* die alveolare CO_2-Spannung der CO_2-Spannung des Arterienblutes gleichgesetzt werden[2]). Durch Übungen an den Vortagen waren die Versuchspersonen mit der Methode gut vertraut. Die in den Protokollen wiedergegebenen Zahlen sind das Mittel von je fünf Bestimmungen, die unter sich stets nur minimale Schwankungen zeigten. *Ederer*[3]), welcher in einer

[1]) *Haldane* und *Priestley*, Journ. of. Physiol. **33**, 225, 1905.
[2]) *Krogh*, Skand. Arch. f. Physiol. **23**, 248, 1910.
[3]) *Ederer*, diese Zeitschr. **132**, 103, 1922.

kürzlich erschienenen Arbeit die alveolaren CO_2-Spannungen unter künstlichem Licht untersucht hat, verwendete das *Plesch*sche[1]) Verfahren, welches die CO_2-Spannung des Venenblutes mißt. Die Nachteile dieses Verfahrens, die von *H. Straub*[2]) betont wurden, kommen gerade bei der vorliegenden Problemstellung sehr störend zur Geltung. Örtliche Änderungen der Zirkulationsgröße und der CO_2-Produktion, wie sie im Bestrahlungsbereich mit Sicherheit angenommen werden können, beeinflussen die CO_2-Spannung des Gesamtvenenblutes, die sonach keinesfalls verwertbar ist zur Beurteilung der CO_2-Spannung desjenigen Blutes, welches mit der Gewebsflüssigkeit des Atemzentrums in Austausch tritt, und daher keinerlei Schlüsse gestattet über die Tätigkeit des Atemzentrums.

Aktuelle Blutreaktion: Verwendung fand die gasanalytische Methode in der von *Straub* und *Meier*[3]) ausgebildeten Form. Es wurden die Mikrodifferentialmanometer *Barcrofts* benutzt, die Eichung geschah nach *Münzer* und *Neumann*[4]). Der Berechnung der Wasserstoffzahl des Blutes lag die *Hasselbalch*sche Gleichung zugrunde[5]). Da es sich in den vorliegenden Versuchen wesentlich um relative Verschiebungen des p_H handelt, konnte von der Einführung der mehrfach angegebenen Korrekturen dieser Gleichung Abstand genommen werden.

Salz- und Wassergehalt des Serums: Es wurden bestimmt: Gefrierpunkt [Mikroapparat nach *Burian* und *Drucker*[6])]; Refraktionswert (*Pulfrichs* Eintauchrefraktometer); Trockensubstanz (Trocknung bei 100 bis 102° C); Na, K und Ca (*Kramer* und *Tisdall*); Cl [in den ersten Versuchen nach *Ruszniyak*[7]), später nach *Volhard*, in ein und demselben Versuch natürlich ohne Wechsel der Methode; die Zahlen sind hergebrachterweise als NaCl ausgedrückt]; HCO_3 (berechnet aus den Volumprozenten gebundener Kohlensäure im Serum bei der CO_2-Spannung des Venenblutes; die Bestimmung geschah ebenfalls mit den *Barcroft*schen Mikroapparaten); P [säurelöslicher nach *Greenwald-Pincussen*[8])[9])].

Die Protokolle sind am Schlusse wiedergegeben.

Versuchsergebnisse.

In Übereinstimmung mit zahlreichen Befunden der Lichtbiologie und mit der üblichen Vorstellung, nach welcher die sekundäre Elektronenstrahlung als maßgebend für die biologischen Wirkungen gilt, ergab sich, daß die *Wellenlänge der verwendeten Strahlung* ohne Einfluß auf den qualitativen Ausfall der Ergebnisse war. Selbst quantitativ bestehen zwischen den Ultraviolettlicht- und Röntgenstrahlenversuchen

---

1) *Plesch*, Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap. **6**, 380, 1909.
2) *H. Straub*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **109**, 223, 1913.
3) *Straub* und *Meier*, diese Zeitschr. **89**, 156, 1918.
4) *Münzer* und *Neumann*, siehe *H. Straub*, Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethoden, 4. Abt., 1920.
5) *Hasselbalch*, diese Zeitschr. **78**, 112, 1916.
6) *Burian* und *Drucker*, Zentralbl. f. Physiol. **23**, 22, 1910.
7) *Ruszniyak*, diese Zeitschr. **110**, 60, 1920.
8) *Pincussen*, Mikromethodik, Leipzig 1921.
9) Zur Errechnung der Äquivalente wurde angenommen, daß der anorganische Phosphor zu gleichen Teilen als primäres und als sekundäres Phosphat im Serum vorhanden sei.

keine größeren Unterschiede, als sie innerhalb der Versuche mit ein und derselben Wellenlänge vorkommen. Die Schwankungen des Verhältnisses der biologisch gleichwertigen Bestrahlungszeit für Ultraviolettlicht und Röntgenstrahlen, die beim Vergleich der in vitro und der am lebenden Organismus gewonnenen Daten offenkundig werden, erfahren an anderer Stelle ihre Erörterung.

Die *alveolare CO_2-Spannung*, deren Änderung unter Strahleneinwirkung den Ausgangspunkt der obigen Fragestellung bildete, erwies sich in allen Versuchen deutlich beeinflußt. Bereits ½ bis 1½ Stunden nach der Bestrahlung hatte sie sich in den Lichtversuchen um 0,6, 0,3, 1,9, 1,9 mm Hg gesenkt, in den Röntgenversuchen betrug der Abfall um die gleiche Zeit 2,3, 1,8, 0,8 mm Hg. Der tiefste Punkt der alveolaren CO_2-Spannung wird etwa 24 Stunden nach der Bestrahlung erreicht, in allen Fällen war in diesem Stadium der Strahlennachwirkung die alveolare CO_2-Spannung noch weiter unter den Ausgangswert erniedrigt, in den Lichtversuchen um 1,2, 3,5, 2,2 mm Hg, in den Röntgenversuchen um 2,6, 2,1, 7,3 mm Hg. Die Rückkehr zum individuellen Normalwert erfolgt sehr langsam und unvollständig; bei Lichteinwirkung ist nach 72 Stunden im Falle *He.* noch ein Defizit von 1,9 mm, nach 123 Stunden im Falle 6 von 1,1 mm vorhanden, während bei Röntgenbestrahlung im Falle *Neu.* 72 Stunden nach der dritten Sitzung die Alveolarspannung 0,1 mm unter dem Werte vor der dritten Sitzung, 1,6 mm unter demjenigen vor der ersten Sitzung liegt. Unter den Versuchsobjekten *Hasselbalchs*[1]) befanden sich zwei Personen (*K. A. H.* und *A. H.*), die ein individuell eigentümliches Verhalten insofern zeigten, als bei ihnen selbst auf ein universelles Lichtbad kein Abfall der alveolaren CO_2-Spannung eintrat. Solche Personen kamen unter den von mir Untersuchten nicht vor; auch in den hier nicht mitgeteilten Versuchen an Hunden und Kaninchen wurde ein derartiges Verhalten nicht beobachtet. Bemerkenswert war die Bewegung der alveolaren CO_2-Spannung bei solchen Personen, die in dem Stadium der stärksten Senkung der alveolaren CO_2-Spannung, wie sie 24 Stunden nach der Bestrahlung zu beobachten ist, einer erneuten Strahleneinwirkung unterworfen wurden. In keinem dieser Fälle trat ein weiterer Abfall der CO_2-Spannung auf; im Gegenteil zeigte sich regelmäßig ein geringer Anstieg, so daß die Werte zuweilen denjenigen der Vorperiode ziemlich nahe kamen. Dieses paradoxe Verhalten steht im Zusammenhang mit der zu besprechenden Veränderung der Erregbarkeit des Atemzentrums. Ein Anstieg der alveolaren CO_2-Spannung über den Ausgangswert hinaus kam in keinem Falle fortgesetzter Bestrahlung, weder bei Licht- noch bei Röntgen-

---

[1]) *Hasselbalch*, diese Zeitschr. **46**, 433, 1912.

einwirkung, zustande. Im Gegensatz hierzu hat *Ederer*[1]) in einem Selbstversuch über Steigerungen der alveolaren CO_2-Spannung nach Anwendung mittlerer Lichtdosen berichtet, während er nach starken Dosen übereinstimmend mit den übrigen Untersuchern die Alveolarspannung erniedrigt fand. Seine Werte, die für die venöse CO_2-Spannung ermittelt wurden, können jedoch nicht ohne weiteres mit denen der übrigen Untersucher verglichen werden. Bei der Erörterung der Versuchsmethodik war darauf hingewiesen, daß die Bestimmung der venösen CO_2-Spannung nach der *Plesch*schen Alveolargasanalysenmethode gerade für die hier bearbeitete Fragestellung durchaus ungeeignet ist. Die Unübersichtlichkeit der mit ihr eingeführten Fehlerquellen (s. oben) macht ihre Ergebnisse auch einer Korrektur unzugänglich. Es erscheint durchaus möglich, daß die abweichenden Befunde *Ederes* allein durch die Fehlerquellen seiner Versuchsmethodik bedingt sind. Den von diesem Autor erwogenen Deutungsmöglichkeiten ist damit der Boden entzogen.

Für die Beantwortung eines Teiles der eingangs aufgeworfenen Fragen ist es von entscheidender Bedeutung, ob den Bewegungen der alveolaren CO_2-Spannung gleichsinnige Änderungen der *Alkalireserve des Blutes* parallel gehen. Über die Größe der Alkalireserve des Blutes gibt am eindeutigsten die Höhenlage seiner Bindungskurve Auskunft. Zu einer zahlenmäßigen, raschen Festlegung etwaiger Verschiedenheiten der Kurvenlage erweist es sich zweckmäßig, aus der Kurve das CO_2-Bindungsvermögen des betreffenden Blutes bei einer bestimmten CO_2-Spannung zu entnehmen, z. B. bei 40 mm Hg. Für meine Versuchspersonen ergab sich auf diesem Wege das folgende Verhalten: Die Alkalireserve des Blutes licht- und röntgenbestrahlter Menschen zeigt deutliche Schwankungen. Sofort nach der Bestrahlung besteht eine deutliche Verminderung der CO_2-Bindungsfähigkeit, das Blut ist hypokapnisch. Im einzelnen war in den Lichtversuchen während der ersten Stunde nach der Strahleneinwirkung das CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung um 3, 4, 5 Vol.-Proz. herabgesetzt; in den Röntgenversuchen war die Abnahme noch stärker, sie betrug 5, 10, 11 Vol.-Proz. Der Lichtfall *Egg.*, welcher erst $1\frac{1}{2}$ Stunden nach einer hochdosierten Bestrahlung untersucht wurde, verhält sich abweichend, bei ihm war um diese Zeit eine entgegengesetzte Beeinflussung des CO_2-Bindungsvermögens zu beobachten, es bestand eine ausgesprochene Hyperkapnie. Das Verständnis dieser Unstimmigkeit wird gegeben durch die Tatsache, daß nach 24 Stunden auch in den übrigen Fällen die anfängliche Hypokapnie von einer Hyperkapnie abgelöst ist. Diese Zunahme des CO_2-Bindungsvermögens über den Ausgangswert hinaus,

---

[1]) *Ederer*, diese Zeitschr. **133**, 103, 1922.

welche begleitet ist von dem erwähnten geringen, aber doch deutlichen weiteren Absinken der alveolaren CO_2-Spannung, beträgt (wiederum bei gegebener CO_2-Spannung von 40 mm Hg) in den Versuchen mit ultraviolettem Lichte 2, 6, 1, in denen mit Röntgenstrahlen 3, 6, 6 mm Hg. Die frühe Hyperkapnie des Lichtfalles *Egg.* (die übrigens auch in einem Tierversuch mit Röntgenstrahlen wiederkehrte) ist unter Berücksichtigung der in diesen beiden Fällen verwendeten großen Strahlenmengen dahin zu verstehen, daß das hypokapnische Stadium zur Zeit der Blutentnahme infolge besonders lebhaft einsetzender Regulationsvorgänge bereits überschritten war. Während die Hypokapnie also eine flüchtige Erscheinung, ein Übergangsstadium darstellt, hält die Hyperkapnie noch tagelang nach der Bestrahlung an; in den Lichtfällen beträgt sie bei 40 mm CO_2-Spannung noch 6 Vol.-Proz. (Fall *H.*), nach 123 Stunden noch 1,2 Vol.-Proz. (*Zi.*, also ebensoviel wie nach 24 Stunden). Die Beeinflussung der Alkalireserve durch fortgesetzte Strahleneinwirkungen wurden in den Fällen *He.* (Licht) und *Neu.* (Röntgen) untersucht. Im Gegensatz zu der paradoxen Beeinflussung der alveolaren CO_2-Spannung wiederholte sich an der Alkalireserve bei neuer Bestrahlung regelmäßig die bei der ersten Bestrahlung beobachtete Bewegung, stets kam es zu vorübergehender Hypokapnie und zu nachfolgender Hyperkapnie. Die Erhöhung des CO_2-Bindungsvermögens war bei wiederholter Bestrahlung freilich nicht mehr so erheblich, gemessen nach dem Anfangswert des CO_2-Bindungsvermögens bei der einzelnen wiederholten Bestrahlung. Da dieser Anfangswert selbst aber einer erheblichen Hyperkapnie entsprach, so erfuhr, im Vergleich zum Werte der unbestrahlten Vorperiode, die Hyperkapnie doch eine deutliche, mit fortgesetzter Bestrahlung zunehmende Steigerung. Im Lichtversuch wurde nach der zweiten Bestrahlung eine Gesamterhöhung des CO_2-Bindungsvermögens um 7 Vol.-Proz., im Röntgenversuch um 9 Vol.-Proz. festgestellt; der letztere Wert war durch die dritte Bestrahlung in einer 72 Stunden später entnommenen Blutprobe nicht weiter gesteigert worden. Eine Abnahme der Hyperkapnie war andererseits nach 72 Stunden ebensowenig zu verzeichnen.

Die mitgeteilten gleichzeitigen Änderungen der alveolaren CO_2-Spannung und des CO_2-Bindungsvermögens des Blutes gestatten den Schluß, daß die *aktuelle Reaktion des Blutes* in den verschiedenen Stadien der Strahlennachwirkung mehrfache Veränderungen erleidet. Die genaue Berechnung der Wasserstoffzahl des Blutes nach der *Hasselbalch*schen Gleichung bestätigt diesen Schluß. Im Stadium der Hypokapnie findet sich eine ausgesprochene Acidose des Blutes, eine Abnahme der p_H. Obwohl sich alveolare CO_2-Spannung und CO_2-Bindungsvermögen in diesem Stadium gleichsinnig ändern, kommt es doch infolge der weniger ausgiebigen Senkung der CO_2-Spannung zu einer

Verschiebung der aktuellen Reaktion des Blutes nach der sauren Seite hin. Diese Reaktionsänderung beträgt, als Abnahme des p_H ausgedrückt, in den Lichtversuchen 0,07, 0,04, 0,035; in den Röntgenversuchen 0,09, 0,06, 0,05. Bei wiederholten Bestrahlungen tritt (allerdings von einem veränderten Ausgangswert aus) diese Acidose immer wieder von neuem auf; sie beträgt $-0{,}055\ p_H$ (Licht, *He.*) und 0,07, 0,12, 0,11 p_H (Röntgen, *Neu.*). Wie die Hypokapnie ist die Acidose eine flüchtige Erscheinung, in ihrem zeitlichen Ablauf ungefähr auf die erste Stunde der Strahlennachwirkung beschränkt. Schon nach 1½ Stunden ist in einem Lichtfalle (*Egg.*) zusammen mit der besprochenen Hyperkapnie eine deutliche Alkalose nachweisbar ($p_H + 0{,}05$). Diese Alkalose ist etwa 24 Stunden nach der Bestrahlung auf ihrem Höhepunkt angelangt; in dem eben erwähnten Falle *Egg.* ist die p_H-Zunahme nach 24 Stunden noch weiter gestiegen; der gesamte Unterschied gegenüber der Vorperiode beträgt jetzt $+0{,}075$. In den übrigen Lichtversuchen beträgt die Erhöhung des p_H nach 24 Stunden 0,025 und 0,03; in den Röntgenversuchen 0,06, 0,06, 0,12. Ebenso wie die Hyperkapnie wird die eingetretene Alkalose über Tage hin festgehalten. Nach 72 Stunden beträgt die p_H-Zunahme 0,07 (Licht, *He.*), nach 123 Stunden noch 0,015 (Licht, *Zi.*, also noch die Hälfte der Zunahme nach 24 Stunden). Wiederholte Bestrahlungen sind nicht imstande, die nach 24 Stunden wieder erreichte Alkalose über den Wert hinaus zu steigern, der bei einer ersten ausreichenden Strahlenmenge erreicht war; vielmehr bleibt die 24 Stunden nach der zweiten und den folgenden Bestrahlungen erreichte Alkalose hinter derjenigen der ersten Einwirkung etwas zurück, im Gegensatz zur Hyperkapnie, die sich in denselben Fällen noch ein wenig erhöhen ließ. Die Verminderung der Alkalose 24 Stunden nach der zweiten Bestrahlung betrug bei *He.* (Licht) p_H $-0{,}01$, bei *Neu.* (Röntgen) p_H $-0{,}035$, 72 Stunden nach der dritten Bestrahlung bestand bei *Neu.* dieselbe alkalische Reaktion wie 24 Stunden nach der zweiten Bestrahlung.

Experimentell festgestellt ist somit eine die *Senkung der alveolaren CO_2-Spannung* begleitende vorübergehende *flüchtige Hypokapnie und acidotische Reaktionsverschiebung* des Blutes, die nach etwa einstündiger Nachwirkungszeit in eine *beständige, über Tage hin festgehaltene Hyperkapnie und alkalotische Reaktionsänderung* umzuschlagen beginnt. Wiederholungen der Bestrahlung führen zu einer geringen, jedoch unter dem Anfangswert bleibenden Wiedererhebung der alveolaren CO_2-Spannung, zu erneuter flüchtiger Hypokapnie und Acidose, zu anhaltender, noch weiter steigender Hyperkapnie, wobei infolge der geänderten alveolaren CO_2-Spannung die Alkalose sich um ein geringes vermindert, aber deutlich über dem Anfangswert stehenbleibt.

Während für das Ultraviolettlicht die Änderungen der Alkalireserve und der aktuellen Reaktion des Blutes in diesen Versuchen erstmals nachgewiesen werden, sind für die Röntgenstrahlen in neuesten Untersuchungen amerikanischer Autoren vereinzelte ähnliche Befunde im Plasma des Blutes erhoben worden. *Hussey*[1]) hat bei Kaninchen nach Röntgenbestrahlung im Plasma des Herzblutes eine Zunahme des Bicarbonats (nach *van Slyke* bestimmt) und eine Erhöhung des p_H (kolorimetrisch nach *Cullen* gemessen) festgestellt; die Herzpunktionen erfolgten 3 Stunden bis 14 Tage nach der Bestrahlung; das p_H fiel in der Nachperiode rascher ab als das Bicarbonat. [Dieselbe Erscheinung wurde bei *Zi* (Licht) beobachtet, s. oben, S. 152.] *Golden*[2]) berichtet ohne Zeitangabe der Blutentnahme, daß ein Abfall des Bicarbonats (nach *van Slyke*) im Plasma ausblieb. *Hirsch* und *Petersen*[3]) fanden im Armvenenblut unmittelbar nach der Bestrahlung eine geringe Abnahme des p_H (Gaskettenmessung) und der Alkalireserve (nach *van Slyke*); nach 24 Stunden ergab die elektrometrische Messung des p_H regelmäßig eine Alkalose; über das Verhalten des Bicarbonats um diese Zeit wird nicht berichtet. Die mit durchaus abweichender Methode gewonnenen Resultate *Husseys* am Plasma und *Hirschs* und *Petersens* am Venenblut zeigen somit völlige Übereinstimmung mit den hier vorgelegten Ergebnissen am Blut. Erwähnt seien noch Versuche von *Mahnert* und *Zacherl*[4]), welche mit der älteren gasanalytischen Methode nach *Morawitz* und *Walker* eine geringe Abnahme des CO_2-Bindungsvermögens im Blute röntgenbestrahlter Menschen festgestellt haben. Diese Autoren glauben, damit eine Acidose nachgewiesen zu haben. Eine Abnahme der CO_2-Kapazität des Blutes wurde zwar im früheren klinischen Sprachgebrauch mit dem Begriff der Acidose identifiziert, während er heute für eine wahre Verschiebung der aktuellen Reaktion des Blutes reserviert bleibt. Die letztere kann aus den Befunden *Mahnerts* und *Zacherls* natürlich nicht erschlossen werden. Es kommt dazu, daß bei den größeren Fehlerquellen der verwendeten älteren Methode, die nur *einen* Punkt der CO_2-Bindungskurve bestimmt, die gefundenen Verschiebungen des CO_2-Bindungsvermögens zum Teil noch im Bereich der Fehlerbreite liegen. Das hyperkapnische Stadium der Röntgennachwirkung ist diesen Autoren entgangen, ein Umstand, der um so auffälliger ist, als die zweite Blutentnahme „nach Abschluß der Bestrahlung" am nüchternen Patienten (also am folgenden Vormittag ? ?) gemacht wurde.

Um einer Beantwortung der eingangs aufgeworfenen Fragen näher zu kommen, erweist es sich nötig, die gleichzeitig mit diesen Verschiebungen der Alkalireserve und aktuellen Reaktion des Blutes ablaufenden *Veränderungen im Wasser-, Salz- und Eiweißgehalt des Serums* zu berücksichtigen. Die Einzelheiten der Ergebnisse dieser Untersuchungen an den gleichen Versuchspersonen sind der nächsten Mitteilung vorbehalten. Das Resultat der bilanzmäßigen Untersuchung des Blutserums, die weder für Licht noch für Röntgenbestrahlung vordem unternommen scheint, läßt sich in Kürze dahin zusammenfassen:

---

[1]) *Hussey*, Kong. Zentralbl. f. d. ges. inn. Med. **25**, 468, 1923.
[2]) *Golden*, ebendaselbst **27**, 134, 1923.
[3]) *Hirsch* und *Petersen*, ebendaselbst **33**, 215, 1924.
[4]) *Mahnert* und *Zacherl*, Strahlentherapie **16**, 163, 1924.

Das Verhältnis der im Serum vorhandenen Kationen und Anionen erfährt unter Strahlenwirkung eine entscheidende Veränderung. Das im Serum normalerweise vorhandene anorganische Anionendefizit, welches im Zusammenhang steht mit der Absättigung eines großen Teiles der basischen Valenzen des Serums durch lockere Bindung an Eiweiß als Alkaliproteinat, wird erheblich gesteigert. Es nimmt in den Lichtversuchen um 35 bis 37 Proz., in einem Falle um 96 Proz., in den Röntgenversuchen um 32 bis 47 Proz. seines Wertes in der Vorperiode zu. Die hierdurch nahegelegte Vermutung, daß organische Körper von Säurecharakter in dem Serum neu aufgetreten sind, erhält eine Stütze durch die Bewegungen der Refraktometerwerte des Serums nach Bestrahlung der Versuchspersonen. In den Fällen, wo eine erhebliche Wasserzunahme im Serum nachweisbar ist, steigen trotzdem die Refraktometerwerte um 0,6 bis 0,7 (Licht) und 0,3 bis 1,2 (Röntgen) Skalenteile des *Pulfrich*schen Eintauchinstruments an; in den Fällen einer minimalen Wasserzunahme oder einer geringen Wasserverarmung des Serums (zwei Lichtfälle) läßt sich ein überschießender Anstieg der Refraktometerwerte um 1,3 bis 2,5 Skalenteile nachweisen. Endlich zeigen die Bilanzen noch eine Änderung des äquivalenten Verhältnisses der K- und P-Ionen einerseits, der Ca-Ionen andererseits, und zwar nimmt dieses äquivalente Verhältnis zu, vom Werte der Vorperiode aus berechnet um 12 bis 59 Proz. in den Licht-[1]), um 29 bis 40 Proz. in den Röntgenversuchen.

Läßt sich der *Anstieg eiweißartiger Körper mit Säurecharakter im Serum*, wie er in den Änderungen des Anionendefizits und der Refraktionswerte sich ausdrückt, als eine direkte Strahlenwirkung am Protoplasma der Gewebe und des Blutes auffassen? Eine Säuerung von Eiweißlösungen, die mit ultraviolettem Lichte [*Mond*[2])], mit Radium- (vorwiegend γ-) Strahlen [*Fernau* und *Pauli*[3])] und mit Röntgenstrahlen [*Wels*[4])] behandelt waren, ist durch die genauen elektrometrischen Messungen dieser Autoren gesichert. Im Eiweißmolekül soll nach *Fernau* und *Pauli* eine intramolekulare Umlagerung, und zwar am Orte der Verknüpfung der Aminosäuren untereinander, stattfinden, wobei das Freiwerden saurer Valenzen angenommen wird. Einen Abbau des Eiweißmoleküls unter Strahleneinfluß lehnen diese

[1]) Anmerkung nach Abschluß der Arbeit. In Auswertung eines soeben von *Essinger* und *György* (diese Zeitschr. **149**, 344, 1924) vorgelegten umfangreichen Materials ließ sich errechnen, daß die Änderung dieses Verhältnisses eine sehr regelmäßige Folge der Strahleneinwirkung und ganz unabhängig von der gewählten Strahlenmenge ist. Näheres siehe in der II. Mitteilung.

[2]) *Mond*, Pflügers Arch. **196**, 540, 1922.

[3]) *Fernau* und *Pauli*, Kolloidzeitschr. **30**, 6, 1922.

[4]) *Wels*, Klin. Wochenschr. **3**, 763, 1924.

Autoren ab, wie denn auch eine Zunahme des formoltitrierbaren N und des Rest-N in den bestrahlten Lösungen nicht nachweisbar ist. Bei der Strahlenbehandlung des Organismus ist die Ausdehnung des Eiweißumbaues neben der Größe des Einfallfeldes im wesentlichen von der Durchdringungsfähigkeit der verwendeten Strahlen abhängig. Das Ultraviolettlicht gelangt, in der Hornschicht stark abgeschwächt, bis an das lebende Protoplasma der Epidermis und zum Teil noch an das Blut des Papillarkörpers, während die Röntgenstrahlen dank ihrer großen Tiefenwirkung den Eiweißbestand nicht nur der Haut, sondern vor allem auch der darunter gelegenen Organe und eines größeren Minutenblutvolumens beeinflussen. Durch die wesentlich größeren Strahleneinfallsfelder in den Lichtversuchen wird ein gewisser Ausgleich geschaffen. Die Erhöhung der Refraktionswerte des Serums dürfte sonach auf zweierlei Vorgänge zurückzuführen sein: auf einen Umbau serumeigner Eiweißkörper, mit welchem eine Änderung des Brechungsvermögens und das Auftreten saurer Valenzen verknüpft ist, sodann auf einen Einbruch von Gewebsflüssigkeit in das Blut, durch welchen ähnlich umgelagerte, in ihrem Brechungsvermögen beeinflußte Eiweißkörper mit sauren Valenzen von außen her zugeführt werden.

Durch den besprochenen Umbau werden elektrische Ladung, Ionenadsorption, Hydratation der Gewebs- und Blutkolloide entscheidend geändert. Die bestehenden Gleichgewichte an den Phasengrenzen Gewebszelle : Gewebsflüssigkeit, Gewebsflüssigkeit : Gefäßendothel, Gefäßendothel : Blutflüssigkeit, Blutflüssigkeit : Körperchen werden zerstört und durch lebhaft einsetzende Austauschvorgänge im Ionen- und Wasserbestand wird ein neues Gleichgewicht zwischen den Systemen angebahnt. In den Veränderungen des Gesamtblutes und Serums kommen diese Austauschvorgänge zum Ausdruck.

Der Umbau der Eiweißkörper, die Umstellung im organischen Haushalt der Gewebe und des Blutes, tritt damit an den Anfang der unter Strahlenwirkung ausgelösten Vorgänge. Die Säuerung des Blutes durch das Auftreten brechungserhöhender Eiweißkörper mit Säurecharakter ist ihre erste *Folge.* Es kommt so zu einer *Veränderung der aktuellen Reaktion des Blutes nach der sauren Seite hin,* die sich in einem flüchtigen Anfangsstadium experimentell nachweisen läßt. Der durch die Acidose geschaffene erhöhte Blutreiz führt zur Reizung des Atemzentrums, welche zu der Abdunstung von Kohlensäure, zu der *Senkung der alveolaren* CO_2*-Spannung* Veranlassung gibt. Diese kompensatorischen Vorgänge reichen aber nicht aus, um die Blutreaktion auf den Ausgangswert zurückzubringen. Unter den weiteren Regulationsmechanismen, die dem Körper zur Verfügung stehen, um eine normale Blutreaktion wieder herzustellen, spielen in den späteren

Stunden der Strahlennachwirkung besonders diejenigen, welche an die Tätigkeit der Leber und der Nieren geknüpft sind, eine ausschlaggebende Rolle. Aus äußeren Gründen konnten sie in den vorliegenden Versuchen nicht gleichzeitig experimentell verfolgt werden. Ihr Einsetzen ist daraus zu schließen, daß ungefähr von der zweiten Stunde an, trotzdem der anorganische Basenbestand des Serums keine nennenswerte weitere Veränderung erfährt, das acidotische Stadium überwunden wird. Wenn es um diese Zeit zu einer nach der entgegengesetzten Seite überschießenden Umstellung der aktuellen Blutreaktion, zu einer *Alkalose* kommt, so ist dieses Verhalten nicht durch ein primäres Übermaß der kompensatorischen Leistung der erwähnten Regulationsmechanismen, sondern durch eine inzwischen aufgetretene *Veränderung der Reizbarkeit des Atemzentrums* zu erklären. Die Größe der alkalotischen Reaktionsverschiebung ist geradezu ein Maß der erfolgten Reizbarkeitssteigerung.

Die erste Formulierung des *Zusammenhanges zwischen der aktuellen Reaktion des Blutes und der Erregbarkeit des Atemzentrums* ist von *Hasselbalch* in folgenden Worten gegeben worden: „Der Theorie nach sollte in allen Fällen das p_H des Blutes bei der alveolaren CO_2-Spannung ein direktes Maß für die Erregbarkeit des Zentrums sein, bei hohem p_H große Erregbarkeit, bei kleinem p_H geringe Erregbarkeit“[1]). Die Tatsache, daß bei sämtlichen Versuchspersonen, sowohl nach Ultraviolettlicht- als nach Röntgenbestrahlung, über Tage hin (gemessen bis 123 Stunden) die $H^{\cdot}$-Konzentration des Blutes dauernd auf einen gegen die Vorperiode erniedrigten Wert eingestellt blieb, ist nur damit zu erklären, daß die Reizschwelle des Atemzentrums für den chemischen Regulator der Atmung, die C_H des Blutes, erniedrigt ist, mit anderen Worten, daß die Erregbarkeit des Atemzentrums für den normalen Blutreiz eine Steigerung erfahren hat. *Hasselbalch* selbst hatte auf anderem Wege, auf Grund der Senkung der alveolaren CO_2-Spannung und nach dem Ausfall der *Lindhard*schen Erregbarkeitsprüfung des Atemzentrums[2]), dieselbe Feststellung für die Wirkung der ultravioletten Strahlen der Kohlenbogenlampe gemacht (die aktuelle Blutreaktion ist von ihm nicht untersucht worden); für Röntgenstrahlen scheint diese Folgerung bisher noch von keiner Seite ausgesprochen zu sein, obwohl sie nach den neuesten Mitteilungen der oben genannten amerikanischen Autoren über eine Alkalose nach Röntgenstrahleneinwirkung naheliegen mußte.

Zur *Erklärung der Erregbarkeitssteigerung des Atemzentrums nach Strahleneinwirkung* war *Hasselbalch* geneigt[3]), irgend einen Zusammen-

[1]) *Hasselbalch*, diese Zeitschr. **68**, 240, 1915.
[2]) *Lindhard*, Journ. of Physiol. **42**, 337, 1911.
[3]) *Hasselbalch*, diese Zeitschr. **46**, 435, 1912.

hang mit den Nerven der entzündlich erweiterten Hautgefäße anzunehmen. Über die Art der stofflichen Vorgänge ist mit dieser Annahme freilich noch nichts ausgesagt. Es erscheint vielmehr berechtigt, die *Hasselbalch* noch nicht bekannten, bei meinen Versuchspersonen quantitativ verfolgten Umstellungen im Ionengleichgewicht des Serums mit der Erregbarkeitssteigerung in Zusammenhang zu bringen. Die unter Strahlenwirkung auftretenden Änderungen im anorganischen Bestande des Blutes und damit auch der das Atemzentrum umspülenden Gewebsflüssigkeit würden nach dieser Vorstellung eine Umstimmung der physikalisch-chemischen Eigenschaften der als Atemzentrum zusammengefaßten Zellen herbeiführen, die sich in einer Änderung der Erregbarkeit des Atemzentrums kund gäbe. Diese Überlegungen wurden nahegelegt durch eben abgeschlossene Untersuchungen von *Kl. Gollwitzer-Meier*[1]), wonach die Erregbarkeit des Atemzentrums vorwiegend durch das Verhältnis $Q = \frac{(K^{\cdot}) \times (HPO_4'' + H_2PO_4')}{(Ca^{\cdot\cdot}) \times (Mg^{\cdot\cdot})}$ geregelt erscheint. Tatsächlich ist nun die Verschiebung des Verhältnisses der äquivalenten Konzentrationen der K-, Ca-, P_2O_5-Ionen (Mg wurde nicht bestimmt) bei allen Versuchspersonen nach der Seite hin erfolgt, daß der Quotient der äquivalenten Konzentrationen zunimmt, eine Bewegung, die nach der genannten Theorie die Erregbarkeit des Atemzentrums steigern würde. Die Zunahme der Erregbarkeit des Atemzentrums unter Strahlenwirkung und die Richtung der gleichzeitigen Ionenverschiebung stehen also im Einklang mit der Theorie von *Kl. Gollwitzer-Meier*.

Versucht man, die Änderungen der Erregbarkeit, wie sie in dem Grade der Alkalose zum Ausdruck kommen, und die Verschiebungen des Ionengleichgewichts zahlenmäßig einander gegenüber zu stellen, so kommt man zu den Werten der Tabelle I, worin die Stäbe 8 und 7, darstellend die prozentualen Änderungen der Erregbarkeit des Atemzentrums ($E_ä$) und des Gleichgewichts der wesentlichen Ionen ($Q_ä$), unmittelbaren Aufschluß geben.

Auf *individuelle Unterschiede in der Beeinflussung der Reizbarkeit des Atemzentrums* durch Strahlenwirkung hatte schon *Hasselbalch* hingewiesen. Sie äußerten sich darin, daß sich bei zwei Versuchspersonen unter Lichtbehandlung sowohl mit der *Lindhard*schen direkten Erregbarkeitsprüfung des Atemzentrums als auch in dem Verhalten der alveolaren CO_2-Spannung keine Steigerung der Erregbarkeit des Atemzentrums feststellen ließ. Mit der nötigen Vorsicht, welche durch die zweifellos noch etwas grobe[2]) Berechnung der Werte von $Q_ä$ geboten ist, läßt sich nun anscheinend auch aus den Werten der Tabelle I auf

[1]) *Kl. Gollwitzer-Meier*, diese Zeitschr. 1924.
[2]) *P* wurde teilweise nicht mitbestimmt.

Tabelle I.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Name	Rechnerisch berücksichtigte Ionen bei Bestimmung von Q und Q'	Quotient d. äquivalenten Konzentration		p_H vor Belichtung (p_H)	p_H nach Belichtung (p'_H)	$\frac{100\,(Q'-Q)}{Q} = Q_ä$	$\frac{100\,(C'_H - C_H)}{C_H} = E_ä$	$J = \frac{-E_ä}{Q_ä}$
			vor Belichtung (Q)	nach Belichtung (Q')					
Ultraviolettlicht	*He.* I	K, Ca	1,00	1,38	7,33	7,40	38	—15	0,39
	He. II	K, Ca	—	1,48	—	7,39	48	—13	0,27
	Mei.	K, Ca	1,01	1,13	$7,30_5$	7,33	12	— 6	0,50
	Egg.	K, Ca, P	1,61	2,56	7,27	$7,34_5$	59	—14	0,24
	Zi.	K, Ca, P	1,87	2,30	7,28	7,31	23	— 7	0,30
	Zi n. 123 St.	K, Ca, P	—	2,80	—	$7,29_5$	49	— 3	0,06
Röntgenstrahlen	*Ze.*	K, Ca	1,00	1,27	7,31	7,37	27	—13	0,48
	Ka.	K, Ca	1,06	1,39	7,29	7,35	30	—13	0,44
	Neu. I	K, Ca	1,04	1,45	7,29	7,41	40	—24	0,60
	Neu. II	K, Ca	—	1,50	—	$7,37_5$	44	—19	0,43
	Neu. III	K, Ca	—	1,66	—	$7,37_5$	59	—19	0,32

das Bestehen solcher individuellen Unterschiede schließen. Ähnlich großen Verschiebungen im Ionengleichgewicht entsprechen bei verschiedenen Versuchspersonen durchaus verschiedene Ausschläge der aus den experimentellen Daten errechneten Erregbarkeitsänderung des Atemzentrums. Besonders deutlich gehen diese Unterschiede aus Stab 9 hervor, welcher das Verhältnis $J = \frac{E_ä}{Q_ä}$ darstellt. Je größer der Wert J (Individualfaktor) ist, welcher in den hier mitgeteilten Fällen zwischen 0,27 und 0,60 schwankt, desto empfindlicher ist das betreffende Atemzentrum für eine Verschiebung des Ionengleichgewichts. Unter den wenigen hier beobachteten Versuchspersonen kommen Unterschiede um das Doppelte vor. Vielleicht ist es auch bemerkenswert, daß anscheinend auch bei ein und demselben Individuum Schwankungen des Wertes J vorkommen. So erweist sich in einem nach 123 Stunden nachuntersuchten Falle (*Zi.*) ein und dasselbe Atemzentrum um diese Zeit als weniger empfindlich gegen die Verschiebung des Ionengleichgewichts, dessen sämtliche Glieder in diesem Falle bestimmt worden sind. J ist von 0,25 auf 0,06 gesunken. Ebenso scheinen neue Verschiebungen des Ionengleich-

gewichts, die im Gefolge erneuter Bestrahlungen auftreten, mit einer geringeren Beeinflussung der Erregbarkeit des Atemzentrums einherzugehen. *J* ist bei *He.* 72 Stunden nach der ersten Bestrahlung 0,39, 24 Stunden nach der zweiten Bestrahlung noch 0,27; bei *Neu.* sinkt der hohe Anfangswert des *J* nach der ersten Bestrahlung (0,60) nach der zweiten und dritten Bestrahlung auf 0,43 und 0,32 ab. Zweifellos sind diese Eigentümlichkeiten an einer größeren Zahl von Fällen und ferner bei anderen Erregbarkeitsänderungen des Atemzentrums nachzuprüfen.

Die beschriebenen Änderungen der Zusammensetzung des Blutes und Serums wurden in den bisherigen Darlegungen vor allem nach der Seite hin gewertet, aus ihnen rückschließend einen *Einblick in die am Bestrahlungsort primär ablaufenden Umsetzungen* zu gewinnen. Nicht weniger bedeutungsvoll aber sind diese Änderungen in ihrer *Wirkung auf die Zellen des Gesamtkörpers.* Sie führen zu einer deutlichen Umstimmung der Milieubedingungen, die sich an den einzelnen Geweben, je nach ihrer Empfindlichkeit gegen Änderungen des physikalisch-chemischen Zustandes der Gewebskolloide, in mehr oder weniger großer Beeinflussung der Funktion kundgibt. Die Erregbarkeitssteigerung der hochempfindlichen nervösen Zellen des Atemzentrums, die im vorstehenden eingehend besprochen wurde, ist ein quantitativ verfolgbares Beispiel dieser Strahlenallgemeinwirkung. An den anderen Organen sind eindeutig abgegrenzte Folgen der Milieuverschiebung im Säftestrom bisher nicht nachweisbar geworden. Zweifellos aber wird der hier experimentell gemessenen Milieuänderung eine wichtige Rolle zukommen in den weiteren Diskussionen[1]) über die Allgemeinwirkung der Strahlen, sowohl im therapeutisch gewollten Bereich als in dem noch nicht sicher vermeidbaren Stadium der Strahlenvergiftung.

Daß es sich hier um ganz allgemeine Gesetzmäßigkeiten handelt, sei schließlich noch durch die Tatsache gestützt, daß durch Wärmestrahlung (sowie durch Leitungswärme) fast gleichartige Wirkungen auf die Erregbarkeit des Atemzentrums ausgeübt werden. Die von *Bazett* und *Haldane* sowie von *Haggard* und *Henderson* berichtete Alkalose nach Dauerbädern (die zu fieberhaften Temperatursteigerungen geführt hatten), und die von *Caiori*, *Crouter* und *Pemberton*[2]) festgestellte

[1]) Die bisher ungeklärte, praktisch erprobte Behebung der „Katererscheinungen“ durch Zufuhr von NaCl oder $CaCl_2$ per os und intravenös läßt sich folgendermaßen deuten. Die Einverleibung der Neutralsalze NaCl und $CaCl_2$ hat einen deutlich acidotischen Effekt; ihre Säurewirkung ist größer als die Einverleibung äquivalenter HCl-Mengen. Durch die acidotische Komponente dieser Therapie wird die Alkalose des Dauerstadiums der Strahlennachwirkung mehr oder weniger kompensiert.

[2]) *Caiori, Crouter* und *Pemberton,* Journ. of biol. Chem. 57, 1, 1923.

Hyperkapnie nach Wärmestrahlung scheinen diesen Schluß zu rechtfertigen[1]). Leider liegen für die Wärmestrahlen bisher keine bilanzmäßigen Untersuchungen des Serummineralbestandes und -eiweißgehaltes vor[2]). Die sehr wahrscheinliche Vermutung, daß es sich auch hierbei um eine primäre Störung im organischen Haushalt und sekundäre Veränderung im anorganischen Bestand handelt, läßt sich daher zunächst nicht durch direkte Tatsachen stützen. Vorläufig spricht nur die gleichartige Wirkung auf die Erregbarkeit des Atemzentrums, welche in den obigen Ausführungen als ein quantitativ verfolgbares Beispiel der Allgemeinwirkung der Strahlen beschrieben wurde, für die Richtigkeit dieser Annahme.

Zusammenfassung.

Sowohl das ultraviolette Licht der Quecksilberdampflampe als die wesentlich kürzeren Wellenlängen der Röntgenstrahlen führen zu primären Umstellungen im organischen Haushalt der bestrahlten Gewebe und des Blutes und in deren Gefolge zu Verschiebungen im anorganischen Bestande des Blutes. Es kommt unmittelbar nach der Strahleneinwirkung zu einer flüchtigen Acidose, einer Vermehrung der C_H des Blutes, hervorgerufen durch das Auftreten saurer Eiweißumbauprodukte im Serum. Hypokapnie des Blutes und Zunahme des Anionendefizits im Serum begleiten dieses Stadium. Etwa 1 bis 2 Stunden nach der Bestrahlung fängt die aktuelle Reaktion des Blutes an, nach der alkalischen Seite hin umzuschlagen. Zusammen mit einer deutlichen Hyperkapnie wird die Alkalose über Tage hin festgehalten; sie ist der Ausdruck einer Erregbarkeitssteigerung des Atemzentrums. Für das Auftreten der letzteren wird die experimentell gemessene Verschiebung des Kationen- und Phosphorsäureanionen-Äquivalentgleichgewichts im Blutserum verantwortlich gemacht. Anscheinend zeigt sich dabei der Grad der Reizbarkeitssteigerung durch Verschiebungen in dem genannten Gleichgewicht individuellen Schwankungen unterworfen. Die Steigerung der Reizbarkeit des Atemzentrums ist ein quantitativ verfolgbares Beispiel der Strahlenallgemeinwirkung.

---

[1]) Temperatursteigerungen kamen bei röntgenbestrahlten Personen meiner Versuche nicht vor; in geringem Grade (am Abend des Bestrahlungstages Erhebungen bis 37,9 und 38,8) waren sie bei den Ultraviolettlichtversuchen nicht zu vermeiden. Zur Zeit der Blutentnahmen, sowohl derjenigen nach ½ bis 1½ Stunden als nach 24 Stunden, war die Körperwärme auch in diesen Fällen unter 37,5° C, durchweg rektal gemessen.

[2]) Über entsprechende Untersuchungen werde ich in Kürze berichten. (Anmerkung bei der Korrektur.)

Versuchsprotokolle.

I. Ultraviolettlichtversuche.

1. *He.* Neuralgia ischiadica. Fieberfrei.

a) Vor Bestrahlung.

CO_2-Spannung	22,2	34,9
CO_2-Vol.-Proz.	38,4	46,0
	39,1	—
Alveolare CO_2-Spannung . .	36,6	
p_H	7,33	

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 48,4
„ „ alveolarer „ 47,0

b) 25 Minuten nach erster Bestrahlung. Sensibilisiert mit Eosin 0,6 am Vorabend, 0,3 vor Bestrahlung; per os. Körperstamm vorn und hinten je 20 Minuten bestrahlt; 60 cm Entfernung.

CO_2-Spannung	23,4	40,8
CO_2-Vol.-Proz.	36,5	46,4
	36,1	48,7
Alveolare CO_2-Spannung . .	36,0	
p_H	7,31	

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 45,0
„ „ alveolarer „ 43,8

c) 72 Stunden nach erster Bestrahlung. Inzwischen starke Rötung und beginnende Schuppung; seit 60 Stunden wieder fieberfrei.

CO_2-Spannung	19,0	34,6
CO_2-Vol.-Proz.	42,6	52,0
	41,9	51,2
Alveolare CO_2-Spannung . .	34,7	
p_H	7,40	

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 54,0
„ „ alveolarer „ 52,1

d) 75 Stunden nach erster Bestrahlung, 1 Stunde nach zweiter Bestrahlung, kein Eosin; Körperstamm vorn und hinten je 15 Minuten.

CO_2-Spannung	21,8	37,3
CO_2-Vol.-Proz.	40,4	48,3
	40,6	49,9
Alveolare CO_2-Spannung . .	36,1	
p_H	7,345	

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 50,1
„ „ alveolarer „ 48,4

e) 21 Stunden nach zweiter Bestrahlung; keine Temperatursteigerung.

CO_2-Spannung	25,4	39,8
CO_2-Vol.-Proz.	47,1	54,6
	47,4	56,4
Alveolare CO_2-Spannung . .	35,9	
p_H	7,39	

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 55,0
„ „ alveolarer „ 53,0

2. *Mei.* Muskelschmerzen. Fieberfrei.

a) Vor Bestrahlung.

CO_2-Spannung	17,8	38,7
CO_2-Vol.-Proz.	40,7	52,3
	40,2	54,1
Alveolare CO_2-Spannung . .	44,4	
p_H	7,305	

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 52,6
,, ,, alveolarer ,, 54,3

b) Nach Bestrahlung, 60 Minuten; Körperstamm vorn und hinten; 70 cm Abstand.

CO_2-Spannung	19,3	32,2
CO_2-Vol.-Proz.	37,1	44,2
	37,0	43,7
Alveolare CO_2-Spannung . .	44,1	
p_H	7,265	

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 48,7
,, ,, alveolarer ,, 50,5

c) 25 Stunden nach Bestrahlung starke Rötung; kein Fieber.

CO_2-Spannung	20,7	36,2
CO_2-Vol.-Proz.	45,1	53,2
	—	52,7
Alveolare CO_2-Spannung . .	43,2	
p_H	7,33	

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 55,0
,, ,, alveolarer ,, 56,0

3. *Egg.* Malum coxae. Fieberfrei.

a) Vor Bestrahlung.

CO_2-Spannung	22,4	38,7
CO_2-Vol.-Proz.	36,8	45,6
	35,9	46,0
Alveolare CO_2-Spannung . .	43,1	
p_H	7,27	

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 46,7
,, ,, alveolarer ,, 48,1

b) 1½ Stunden nach Bestrahlung; 60 Minuten; Körperstamm vorn und hinten; 50 cm Abstand.

CO_2-Spannung	22,8	39,0
CO_2-Vol.-Proz.	43,3	50,9
	42,7	51,7
Alveolare CO_2-Spannung . .	41,2	
p_H	7,32	

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 52,0
,, ,, alveolarer ,, 52,6

c) 20 Stunden nach Bestrahlung starke Hautröte; Temperatur morgens normal.

CO_2-Spannung	17,8	47,8
	40,3	56,3
CO_2-Vol.-Proz.	—	56,9
Alveolare CO_2-Spannung . .	39,6	
p_H	7,345	

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 52,7
„ „ alveolarer „ 52,3

4. *Zi.* Muskelschmerzen. Fieberfrei.

a) Vor Bestrahlung.

CO_2-Spannung	21,8	31,9	46,6
CO_2-Vol.-Proz.	41,7	47,8	55,1
	40,8	46,7	54,2
Alveolare CO_2-Spannung . .	45,97		
p_H	7,28		

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 50,8
„ „ alveolarer „ 53,6

b) ½ Stunde nach Bestrahlung; Körperstamm vorn und hinten 40 Minuten; 70 cm Abstand.

CO_2-Spannung	22,9	33,3	52,5
CO_2-Vol.-Proz.	36,8	43,4	52,6
	—	42,8	50,9
Alveolare CO_2-Spannung . .	45,1		
p_H	7,245		

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 46,6
„ „ alveolarer „ 48,7

c) 24 Stunden nach Bestrahlung. Beginnende Rötung, kein Fieber.

CO_2-Spannung	23,0	40,4
CO_2-Vol.-Proz.	42,8	51,8
	42,7	52,0
Alveolare CO_2-Spannung . .	43,8	
p_H	7,31	

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 52,0
„ „ alveolarer „ 53,5

d) 123 Stunden nach Bestrahlung mäßige Rötung, abklingend.

CO_2-Spannung	20,6	38,0
CO_2-Vol.-Proz.	40,2	51,1
	40,2	52,4
Alveolare CO_2-Spannung . .	44,9	
p_H	7,295	

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 52,0
„ „ alveolarer „ 54,0

II. Röntgenversuche.

1. *Ze.* Cancroid der Unterlippe, carcinomatöse Drüsen der linken Halsgegend. Feld: linke Halsseite 10 × 12 cm. Bestrahlung 1 HED, Fernfeld 50 cm Abstand, Filter 0,5 Zn + 1,0 Al; 144 KV; 2 MA; Bestrahlungszeit 2 Stunden.

a) Vor Bestrahlung.

CO_2-Spannung	19,6	35,1	39,9
CO_2-Vol.-Proz.	37,1	45,9	48,0
	36,0	47,0	48,2
Alveolare CO_2-Spannung . .	39,3		
p_H	7,31		

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 48,3
,, ,, alveolarer ,, 48,0

b) 20 Minuten nach Bestrahlung.

CO_2-Spannung	19,06	35,6	38,5
CO_2-Vol.-Proz.	23,8	34,9	35,9
	25,1	34,0	35,5
Alveolare CO_2-Spannung . .	37,0		
p_H	7,22		

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 37,3
,, ,, alveolarer ,, 36,1

c) 22 Stunden nach Bestrahlung.

CO_2-Spannung	15,6	25,4	41,4
CO_2-Vol.-Proz.	37,0	44,9	51,0
	39,5	43,1	51,8
Alveolare CO_2-Spannung . .	36,7		
p_H	7,37		

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 51,7
,, ,, alveolarer ,, 50,1

2. *Ka.* Mammacarcinom. Fernfeld 80 Minuten; 50 cm Abstand; 144 KV; 2 MA; Filter 0,5 Zn + 1,0 Al. Linke Brust (12 × 12 cm).

a) Vor Bestrahlung.

CO_2-Spannung	20,6	32,1	42,2
CO_2-Vol.-Proz.	34,9	41,3	47,8
	36,4	40,0	48,0
Alveolare CO_2-Spannung . .	38,9		
p_H	7,29		

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 46,0
,, ,, alveolarer ,, 45,1

b) 45 Minuten nach Bestrahlung.

CO_2-Spannung	18,7	29,6	39,9
CO_2-Vol.-Proz.	23,8	30,4	35,6
	23,9	33,2	36,2
Alveolare CO_2-Spannung . .	37,1		
p_H	7,23		

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 36,4
,, ,, alveolarer ,, 35,3

c) 26 Stunden nach Bestrahlung.

CO_2-Spannung	18,0	30,5	43,1
CO_2-Vol.-Proz.	40,5	47,9	54,0
	43,1	46,8	53,9
Alveolare CO_2-Spannung . .	36,8		
p_H	7,35		

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 52,6
,, ,, alveolarer ,, 51,0

3. *Neu.* Mammacarcinom. Drei Bestrahlungen mit je einem Fernfeld; 50 cm Abstand; 36 Minuten; 106 KV; 2 MA; Filter 0,5 Zn + 1,0 Al.

a) Vor erster Bestrahlung.

CO_2-Spannung	30,4	44,1	
CO_2-Vol.-Proz.	38,9	45,1	
	38,7	46,3	
Alveolare CO_2-Spannung . .	37,4		
p_H	7,29		

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 43,7
„ „ alveolarer „ 42,4

b) 45 Minuten nach erster Bestrahlung (rechte Halsgegend 10 × 12cm).

CO_2-Spannung	31,6	47,2	46,5
CO_2-Vol.-Proz.	34,6	43,1	40,4
	34,7	39,9	40,1
Alveolare CO_2-Spannung . .	36,6		
p_H	7,24		

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 38,3
„ „ alveolarer „ 37,0

c) 22 Stunden nach erster Bestrahlung, 1 Stunde vor zweiter Bestrahlung.

CO_2-Spannung	21,1	32,0	45,6
CO_2-Vol.-Proz.	39,3	45,6	52,1
	39,0	47,1	52,8
Alveolare CO_2-Spannung . .	30,1		
p_H	7,41		

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 49,4
„ „ alveolarer „ 44,5

d) 45 Minuten nach zweiter Bestrahlung (rechte Brust 9 × 12 cm).

CO_2-Spannung	20,3	33,3	
CO_2-Vol.-Proz.	36,8	43,7	
	36,5	43,0	
Alveolare CO_2-Spannung . .	34,5		
p_H	7,34		

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 46,9
„ „ alveolarer „ 44,4

e) 20 Stunden nach zweiter Bestrahlung, ½ Stunde vor dritter Bestrahlung.

CO_2-Spannung	17,1	32,3	
CO_2-Vol.-Proz.	39,9	49,1	
	39,7	49,6	
Alveolare CO_2-Spannung . .	35,9		
p_H	7,376		

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 52,8
„ „ alveolarer „ 51,0

f) 1 Stunde nach dritter Bestrahlung (rechte Achselgegend 8 × 10cm).

CO_2-Spannung	25,2	31,3	42,1
CO_2-Vol.-Proz.	34,4	37,6	43,1
	35,0	39,4	42,6
Alveolare CO_2-Spannung . .	36,9		
p_H	7,26		

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 42,1
„ „ alveolarer „ 40,6

g) 72 Stunden nach dritter Bestrahlung, 1 Stunde vor der vierten Bestrahlung.

CO_2-Spannung	16,8	24,8	40,1
CO_2-Vol.-Proz.	39,1	45,0	49,4
	38,5	45,0	52,3
Alveolare CO_2-Spannung . .	35,8		
p_H	7,37		

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 52,4
„ „ alveolarer „ 50,5

h) 1 Stunde nach der vierten Bestrahlung (linke Halsseite 10 × 12 cm).

CO_2-Spannung	30,9	41,8	39,2
CO_2-Vol.-Proz.	36,4	41,6	43,5
	—	40,1	42,7
Alveolare CO_2-Spannung . .	35,2		
p_H	7,27		

CO_2-Bindungsvermögen bei 40 mm CO_2-Spannung 40,6
„ „ alveolarer „ 38,4

Beobachtungen über den Verlauf der anaeroben Pflanzenatmung.

Von

C. Neuberg und A. Gottschalk.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie in Berlin-Dahlem.)

Der Einblick, den wir in den Umsatz der Kohlenhydrate bei der Atmung tierischer Zellen tun können, ist bisher lückenhaft. Mit Sicherheit bekannt sind als Abbauprodukte des Zuckers in animalischen Geweben nur Milchsäure und Acetaldehyd; die erstere entsteht auf anaerobem Wege (Glykolyse), während der Acetaldehyd eine Oxydationsstufe darstellt. Die Schwierigkeiten bei der Erforschung der sich abspielenden Vorgänge sind für die fein differenzierten Zellen der höher entwickelten Organismen aus verschiedenen Gründen groß; insbesondere beeinträchtigt ihre Empfindlichkeit die uneingeschränkte Anwendung von Methoden, welche bei den einzelligen Lebewesen nicht ohne Erfolg zur Klärung des intermediären Kohlenhydratumsatzes haben dienen können.

Wir haben nun gefunden, daß die Zellen höherer Pflanzen ein günstiges Material darbieten, um uns über den Mechanismus der Kohlenhydratveratmung zu unterrichten. Diese Objekte weisen genau wie die tierische Zelle eine anaerobe und oxydative Phase der Atmung auf, und namhafte Pflanzenphysiologen sind der Anschauung, daß bei den Vegetabilien die anaerobe Zuckerspaltung den oxydativen Abbau der Kohlenhydrate nicht nur begleitet, sondern einleitet. So drückt sich schon 1878 *W. Pfeffer* dahin aus, daß es erlaubt ist, zu sagen: „die intramolekulare Atmung ist die Ursache der Sauerstoffatmung", und ganz neuerdings äußert *W. Benecke* in seiner mit *L. Jost* verfaßten Pflanzenphysiologie (1924): „Man muß überzeugt sein, daß die ersten Vorgänge bei Atmung und Gärung identische Zwischenprodukte liefern; Gärung ist der Auftakt zur Atmung."

Bei Sauerstoffausschluß kann man beispielsweise zerriebene Erbsensamen dazu bringen, Alkohol zu bilden. Darin offenbart sich eine Beziehung zwischen dieser Erscheinung und der Zuckerspaltung durch niedere Mikroorganismen vom Typus der Hefen. Für diese ist früher nachgewiesen worden, daß sie den Weingeist nicht unmittelbar, sondern auf dem Umwege über den Acetaldehyd erzeugen, indem mit

dem Prozeß, welcher zur Bildung der Oxydationsstufe führt, ein reduktiver Hergang gekoppelt ist, durch den Acetaldehyd zu Äthylalkohol hydriert wird. Falls es sich hierbei um ein allgemeiner gültiges Prinzip handelt, so mußte es möglich sein, auch für die anaerobe Alkoholbildung durch Samenpflanzen nachzuweisen, daß hier die Straße zum Weingeist über die Aldehydstufe läuft. Das ist tatsächlich der Fall.

a) 90 g guter Erbsensamen wurden für 3/4 Stunden in eine 1/2proz. Sublimatlösung eingelegt und darin öfter umgeschüttelt. Sie wurden darauf mit ausgekochtem Leitungswasser gewaschen und in sterilen großen Petrischalen zum Auskeimen gebracht. Nach 65 Stunden wurden sie unter aseptischen Vorsichtsmaßregeln in einem Porzellangefäß zerkleinert, aber nur grob, da nach *E. Godlewski* (1901) die Atmung der Pflanzen an die Zellenstruktur gebunden ist; dann wurde die Masse unter Schutz vor Infektion in eine keimfreie Glasflasche übergeführt. Die Suspensionsflüssigkeit bestand aus 450 ccm 2,25proz. Traubenzuckerlösung.

b) Im Parallelversuch wurde der Brei aus 90 g ganz ebenso vorbehandelten Erbsensamen gleichfalls in 450 ccm Glucoselösung derselben Konzentration verteilt, jedoch unter Zugabe von 10 g frisch bereitetem sterilen Calciumsulfit.

Durch beide Behälter wurde ein konstanter Strom gereinigten, sauerstofffreien Wasserstoffs 68 Stunden lang hindurchgeleitet.

Im Ansatz a) waren in der angegebenen Zeit 9 mg Acetaldehyd vorhanden, im Ansatz b) 722 mg Acetaldehyd. Es handelt sich also um eine ganz erhebliche und beweiskräftige Zunahme des Acetaldehyds.

Vorläufig wollen wir nur bemerken, daß bei Gegenwart von Toluol dieselbe Bildung von Acetaldehyd, wenn auch in verringertem Maße, erfolgt; ferner ist das lösliche Dinatriumsulfit ebenfalls als Abfangmittel brauchbar. Über die Eignung des zweiten Abfangsverfahrens, das sich des Dimedons bedient, liegen noch keine hinreichenden Erfahrungen vor. Erwähnt sei, daß mit seiner Hilfe in 2 von 5 Versuchen *K. Kurono* bei der Assimilation der Grünalge Chlorella Formaldehyd gefunden hat; die besten Bedingungen hierfür sind noch durch eingehendere und langwierige Experimente zu präzisieren.

Versuche, die später ausführlich beschrieben werden sollen, tun jedenfalls dar, daß Acetaldehyd eine Durchgangsstufe bei den Umwandlungen bildet, die im Verlaufe der anaeroben Atmung der höheren Pflanzen stattfinden.

Weitere Untersuchungen über die Entstehung von Acetaldehyd in tierischen Organen (Aceton-Leber).

Von

C. Neuberg und A. Gottschalk.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie in Berlin-Dahlem.)

Früher[1]) haben wir gezeigt, daß man mit Hilfe des Abfangverfahrens im Gewebebrei von Warmblüterorganen Acetaldehyd in quantitativ bestimmbarer Menge anhäufen kann. Diese Acetaldehydbildung durch überlebende Zellen der Leber und Muskulatur ist an die Anwesenheit von Sauerstoff gebunden; unter anaeroben Bedingungen findet man keinen Acetaldehyd, und Blausäure hemmt in m/1000 Konzentration vollständig sein Auftreten. Durch andere Versuche konnte belegt werden, daß eine Zugabe von verschiedenen Substanzen der Zuckergruppe (Glykogen, Hexose-di-phosphorsäure, Hexose-mono-phosphorsäure, d, l-Glycerinaldehyd, Dioxyaceton, d-Fructose) zu einem Gemische von Gewebebrei und Calciumsulfit die Erzeugung von Acetaldehyd beträchtlich vermehrt. Hingegen erwiesen sich zugefügte Fettsäuren (z. B. Buttersäure) ferner die Oxysäuren Milchsäure und β-Oxybuttersäure als unwirksam ebenso wie die Aminosäure Glykokoll. Ein kräftiger Acetaldehydbildner war jedoch das α-Alanin; ähnlich verhielt sich brenztraubensaures Salz, aus dem auch unter Luftabschluß Acetaldehyd abgespalten wurde. Es können demnach zur Entstehung von Acetaldehyd solche Substanzen Anlaß geben, die zu den Kohlenhydraten gehören oder dazu unter den herrschenden Bedingungen durch die Zelle umformbar sind, oder deren Spaltungsprodukte mit den labilen Durchgangsstufen zusammenfallen, die beim Umsatz von Zucker anzunehmen sind. Diese Umstände sprechen dafür, daß der mit Hilfe des Abfangverfahrens festgelegte und als solcher identifizierte Acetaldehyd ein Zwischenglied im oxy-

---

[1]) *C. Neuberg, A. Gottschalk, H. Strauss*, Deutsch. med. Wochenschr. **1923**, Nr. 45; *C. Neuberg* und *A. Gottschalk*, Klin. Wochenschr. **1923**, Nr. 31; Biochem. Zeitschr. **146**, 164 und 185, 1924; *A. Gottschalk*, ebendaselbst **146**, 582, 1924; Klin. Wochenschr. **1924**, Nr. 30.

dativen Kohlenhydratabbau darstellt. Diese Schlußfolgerung erhält eine weitere Stütze durch unsere Beobachtung, daß sich aus denjenigen Geweben, die nachweislich den stärksten Kohlenhydratstoffwechsel haben, auch am meisten Acetaldehyd abfangen läßt. Nach den Untersuchungen von *O. Warburg* und seinen Mitarbeitern[1]) ist es ein Kennzeichen der Geschwülste, daß sie sehr erhebliche Mengen von Zucker umsetzen. So verarbeitet der mit Sauerstoff gesättigte Tumor in 12 bis 16 Stunden eine seinem eigenen Gewichte gleiche Menge an Kohlenhydrat. Es ist nun bemerkenswert, daß — im Vergleich mit der normalen Zelle — in dem vornehmlich Kohlenhydrate verbrauchenden Tumorgewebe eine vermehrte Acetaldehydentstehung von uns konstatiert werden konnte (vgl. die Protokolle des Anhangs).

Das Auftreten von Acetaldehyd im Stoffwechsel der tierischen Zelle, für das wir nun viele Beweise erbracht haben, bietet eine Parallele zur Hefegärung. Zwar ist beim Hefepilz die Entstehung von Acetaldehyd nicht an die Gegenwart von Sauerstoff geknüpft, aber eine Oxydationsstufe ist der Acetaldehyd auch hier, nicht nur im Vergleich mit dem normalen Gärungs-end-erzeugnis Äthylalkohol, sondern auch in bezug auf den Zucker. Denn die Erhebung von $\frac{C_6H_{12}O_6}{2}$ auf die Stufe der Brenztraubensäure, $C_3H_4O_3$, bedeutet eine Oxydation, und daran ändert die Decarboxylierung, die den Acetaldehyd liefert, ebensowenig wie die Tatsache, daß infolge Vorliegens eines ausgeglichenen Systems von gekoppelten Dehydrierungen und Reduktionen die Oxydationsstufen auch ohne äußere Zufuhr von Sauerstoff gebildet werden und wieder verschwinden, wenn sie nicht durch besondere Eingriffe fixiert werden.

Durch die Untersuchungen von *E.* und *H. Buchner* sowie *M. Hahn* wissen wir, daß sich die Zymase der Hefe von den lebenden Zellen abtrennen und über längere Zeit hin konservieren läßt. Durch Entwässerung von Hefe mittels Aceton und anschließende Behandlung mit Äther gewannen *R. Albert*, *E. Buchner* und *R. Rapp*[2]) ein steriles Pulver, das noch nach Monaten Zuckerlösungen in kräftige Gärung versetzen kann. Seither hat man sich öfters mit Vorteil dieses Trocknungsverfahrens bedient, um bestimmte, rein enzymatisch verlaufende Teilprozesse des Stoffwechsels losgelöst von den Vorgängen zu untersuchen, welche an die normale Zellstruktur gebunden sind. So haben *O. Warburg* und *O. Meyerhof*[3]) mittels Aceton von Staphylokokken und See-igel-eiern gut atmende Präparate erhalten, deren Sauerstoffaufnahme der vitalen in ihren wesentlichen Eigen-

---

[1]) *O. Warburg*, diese Zeitschr. **142**, 317, 1923; *S. Minami*, ebendaselbst 142, 334, 1923; *O. Warburg, E. Negelein, K. Posener*, Klin. Wochenschr. **3**, 1062, 1924.

[2]) *R. Albert, E. Buchner* und *R. Rapp*, Ber. **35**, 2376, 1902.

[3]) *O. Warburg* und *O. Meyerhof*, Pflügers Arch. **148**, 295, 1912; *O. Meyerhof*, ebendaselbst **157**, 251, 1914.

schaften gleichzusetzen war; die Acetonpräparate der Staphylokokken gaben 3 bis 4 Proz. der normalen Atmungsgröße von lebenden Mikroorganismen, und mit See-igel-eiern ließen sich noch günstigere Resultate erzielen.

In den nunmehr zu beschreibenden Versuchen haben wir mit *Aceton-Trockenpräparaten von Kaninchenlebern* gearbeitet und mit Hilfe des auf diese Weise hergestellten keimfreien Pulvers weitere Untersuchungen über die Entstehung von Acetaldehyd vorgenommen.

Methodik.

Wir gingen so vor, daß wir den auf die früher angegebene Art hergestellten Brei von mehreren Kaninchenlebern in die fünffache Menge wasserfreien Acetons eintrugen und 6 Minuten lang gut durchrührten. Dann wurde auf der Nutsche kräftig abgesaugt, der Rückstand sofort in die gleiche Acetonmenge gebracht und nach 3 Minuten langem Verreiben wiederum möglichst vollständig auf der Nutsche abgepreßt. Die nunmehr schon krümelig gewordene Masse wurde mit der dreifachen Menge (berechnet auf das Ausgangsgewicht) absolut trockenen Äthers übergossen, 4 Minuten lang verrieben und abermals auf die Nutsche gebracht. Das so[1]) gewonnene Pulver wurde auf sauberem Filtrierpapier ausgebreitet und nach zweistündiger Trocknung bei niederer Temperatur durch ein Haarsieb getrieben, das die gröberen Bindegewebspartikelchen zurückhielt; das staubfeine graugelbe Pulver wurde in einer sterilen Flasche aufbewahrt.

Versuche.

A. Acetaldehydbildung und Sauerstoffverbrauch der Acetonleber.

Zunächst wurde mittels des Abfangverfahrens im 24-Stundenversuch die Fähigkeit des von uns hergestellten Leber-trocken-präparats geprüft, Acetaldehyd zu erzeugen.

Versuch:

25 g Acetonleber (entsprechend 160 g frischem Leberbrei) wurden 3 Stunden nach ihrer Bereitung in 300 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Dieser Ansatz wurde sofort in der früher näher beschriebenen Weise aufgearbeitet und im Enddestillate[2]) die Titration mit Hilfe des Hydroxylaminsulfat-verfahrens vorgenommen.

[1]) Das verwendete Aceton wurde für jeden Versuch zweimal frisch destilliert; es war ebenso wie der über Natrium getrocknete und überdestillierte Äther völlig frei von Äthylalkohol.

[2]) Es sei an dieser Stelle bemerkt, daß sowohl unsere Acetonleber unmittelbar nach der Herstellung als auch frische Organe sofort nach Schlachtung der Tiere bei der Destillation mit Wasserdampf Spuren einer flüchtigen Substanz abgaben, die eine Jodoformreaktion zeigte. Bei Anstellung der Legalschen Probe trat intensive Gelbfärbung auf; die Substanz verhielt sich also verschieden von Aceton und Acetaldehyd. Beim Ansäuern mit Essigsäure erfolgte ein Umschlag in ein sehr schwaches und schnell vergängliches Rotviolett.

Hydroxylamin-sulfat-verbrauch entsprechend 4,07 mg Acetaldehyd.

25 g Acetonleber (von gleichem Ausgangsmaterial) + 300 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung + 4,0 g Calciumsulfit + 1,20 g Rivanol (als Antiseptikum) bei 40°.

Nach 24 Stunden Aufarbeitung und quantitative Bestimmung.

Hydroxylamin-sulfat-verbrauch entsprechend 28,81 mg Acetaldehyd. In 24 Stunden waren 24,74 mg Acetaldehyd gebildet.

In der digerierten Acetonleber findet also eine beträchtliche Acetaldehyd-produktion statt, deren quantitatives Ausmaß die Entstehung von Acetaldehyd in den überlebenden Leberzellen (auf ein gleiches Gewicht feuchter Substanz berechnet) übersteigt; denn während in unseren früheren Versuchen in dem Brei von 10 bis 15 g frischer Leber durchschnittlich 1 mg Acetaldehyd in 24 Stunden abgefangen wurde, ergibt sich hier die doppelte Ausbeute, d. h. auf 6,5 g ursprüngliches Gewebe kommt 1 mg Aldehyd in 24 Stunden.

Im gleichen Versuche wurde neben der Acetaldehydbildung die Atmung gemessen zur Entscheidung der Frage, ob die Aldehydproduktion von einer entsprechenden Sauerstoffaufnahme begleitet ist. Nach den Bestimmungen, für deren Ausführung wir den Herren *O. Warburg* und *O. Meyerhof* sehr zu Dank verpflichtet sind, belief sich die Sauerstoffzehrung der Aceton-Trocken-leber in der ersten halben Stunde auf 3,1 bis 3,9 Proz. von der des frischen Organs.

$$Q_{\text{Acetonleber}} \left(\text{ber. nach der Formel } \frac{\text{cmm } O_2}{\text{g Gewebe} \times \text{Stunde}}\right) = 350$$

(im Mittel).

Diese Menge Sauerstoff reicht hin, um die oxydative Entstehung des Acetaldehyds sicher zu stellen.

B. Hemmung der Acetaldehydbildung in der Trockenleber durch Blausäure.

Die Berechtigung, den abgefangenen Acetaldehyd in obiger Versuchsreihe zu dem von der Trockenleber veratmeten Sauerstoff in Beziehung zu setzen, ergibt sich aus nachfolgendem Experiment.

Versuch:

35 g Acetonleber (entsprechend 206 g frischem Leberbrei) wurden 4 Stunden nach ihrer Bereitung in 420 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung suspendiert und sofort destilliert; im Enddestillat wurde der Acetaldehyd quantitativ bestimmt.

Acetaldehyd = 2,75 mg.

35 g Acetonleber (von gleichem Ausgangsmaterial) + 420 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung + 4,0 g Calciumsulfit bei 40°. Nach 5 Stunden Aufarbeitung und quantitative Bestimmung.

Acetaldehyd = 6,87 mg.

35 g Acetonleber (von gleichem Ausgangsmaterial) + 420 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung, die KCN in m/1000 Konzentration enthielt, + 4,0 g Calciumsulfit bei 40°. Nach 5 Stunden erfolgte die Destillation über 1 g $FeSO_4$

und 5 g $CaCO_3$, wodurch das Cyanid zurückgehalten wird; des weiteren verfuhren wir auf die übliche Weise.
Acetaldehyd = 0.

Ebenso wie in frischem Leberbrei[1]) wird also auch im Trockenpräparat die Entstehung des Acetaldehyds durch Blausäure gänzlich unterbunden.

C. Insulinzufuhr und Acetaldehydbildung im Trockenpräparat.

Versuch:

20 g Acetonleber (entsprechend 132 g frischem Leberbrei) wurden 14 Stunden nach ihrer Bereitung in 240 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung verteilt. Der Ansatz wurde sofort destilliert und im Enddestillat die Titration vorgenommen.
Acetaldehyd = 1,16 mg.

20 g Acetonleber (von gleichem Ausgangsmaterial) + 240 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung + 3,0 g Calciumsulfit bei 40°. Nach 5 Stunden Aufarbeitung und quantitative Bestimmung.
Acetaldehyd = 4,51 mg.

20 g Acetonleber (von gleichem Ausgangsmaterial) + 240 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung + 3,0 g Calciumsulfit + 3 ccm Insulin (*Brand*) bei 40°. Nach 2½ Stunden nochmals Zugabe von 1 ccm desselben Insulins. Nach 5 Stunden Aufarbeitung und quantitative Bestimmung.
Acetaldehyd = 4,67 mg.

12 g Acetonleber (entsprechend 90 g frischem Leberbrei) + 145 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung + 3,0 g Calciumsulfit bei 40°. Nach 5 Stunden Destillation und Titration.
Acetaldehyd = 4,12 mg.

12 g Acetonleber (von gleichem Ausgangsmaterial) + 145 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung + 3,0 g Calciumsulfit + 2,5 ccm Insulin (*Brand*) bei 40°. Nach 2½ Stunden Zusatz von noch 1 ccm Insulin. Nach 5 Stunden Aufarbeitung.
Acetaldehyd = 4,95 mg.

Insulin, das die Acetaldehydbildung durch frischen Leber- und Muskelbrei um das 2½fache steigert, war nahezu ohne Einfluß auf den Vorgang im Trockenpräparat. Das steht in Übereinstimmung mit dem Befunde, daß der Sauerstoffverbrauch der Acetonleber nur 3 Proz. der Norm beträgt, sowie mit der früher begründeten Vorstellung, daß Insulin oxydative Leistungen zu beschleunigen vermag.

D. Anhäufung von Acetaldehyd im Trockenpräparat ohne Abfangmittel.

Versuch:

18 g Acetonleber (entsprechend 128 g frischem Leberbrei) wurden 15 Stunden nach ihrer Darstellung in 220 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung aufgeschwemmt und anschließend aufgearbeitet.
Acetaldehyd = 2,82 mg.

---

[1]) *A. Gottschalk*, l. c.

18 g Acetonleber (von gleichem Ausgangsmaterial) + 220 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung bei 40°. Nach 5 Stunden Destillation und quantitative Bestimmung.

Acetaldehyd = 6,78 mg.

18 g Acetonleber (von gleichem Ausgangsmaterial) + 220 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung + 3,0 g Calciumsulfit bei 40°. Nach 5 Stunden Destillation und quantitative Bestimmung.

Acetaldehyd = 5,16 mg.

22 g Acetonleber (entsprechend 160 g frischem Leberbrei) wurden 2 Stunden nach ihrer Herstellung in 270 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung suspendiert; anschließend Destillation und Titration.

Acetaldehyd = 1,99 mg.

22 g Acetonleber (von gleichem Ausgangsmaterial) + 270 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung bei 40°. Nach 5 Stunden Aufarbeitung.

Acetaldehyd = 5,67 mg.

22 g Acetonleber (von gleichem Ausgangsmaterial) + 270 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung + 3,0 g Calciumsulfit bei 40°. Nach 5 Stunden Aufarbeitung.

Acetaldehyd = 4,51 mg.

Während im frischen Leberbrei bei Abwesenheit eines Abfangmittels innerhalb 5 Stunden eine nennenswerte Ansammlung von Acetaldehyd ausbleibt, erfolgt eine solche in der Acetonleber auch ohne Calciumsulfit-beigabe. Dabei ist in 5-Stundenversuchen die Menge abdestillierbaren Aldehyds für die Acetonleber (ohne $CaSO_3$) ungefähr doppelt so groß wie beim frischen Präparat (mit Abfangmittel).

Durch die Vorbehandlung der Leber mit Aceton findet, wie aus obigen Daten hervorgeht, nicht nur eine Herabminderung der Sauerstoffaufnahme statt, sondern es kommt zugleich zu einer Schädigung der Agenzien, denen die Weiterverarbeitung des intermediär auftretenden Acetaldehyds obliegt. In erster Linie ist hier wohl an die Aldehydmutase zu denken, die nach *J. Parnas*[1]) sowie *F. Battelli* und *L. Stern*[2]) durch Aceton vernichtet oder stark geschwächt wird. (Daß man bei Acetonhefe eine derartige Anhäufung von Acetaldehyd nicht beobachtet, hängt damit zusammen, daß hier die korrelativen Dismutationen ungestört bleiben.)

Durch mathematische Ableitung haben wir früher dargetan, weshalb für den Abfangversuch bei Leberbrei die Möglichkeiten viel ungünstiger liegen als bei der Hefenzelle, wenn man des Acetaldehyds habhaft werden will. Zu der Schwierigkeit, homogene Aufschwemmungen mit großer Oberfläche zu bereiten, gesellt sich die Empfindlichkeit des tierischen Gewebes; diese besteht sowohl in der kurzen Dauer des „Überlebens" als in der Schädigung, die von Zusätzen bewirkt wird. Letztere bedingt es, daß lediglich das schwerlösliche Calciumsulfit angewendet werden kann, das als Bodenkörper fungiert und, bloß mit

[1]) *J. Parnas*, diese Zeitschr. 28, 284, 1910.

[2]) *F. Battelli* und *L. Stern*, ebendaselbst 29, 143, 1910.

einem Bruchteil der groben Organpartikel in Berührung tretend, nur diejenige Menge des in der Zelle gebildeten Acetaldehyds zu fixieren vermag, die an die Außenfläche jener Konglomerate gelangt.

E. Nachweis von Carboxylase im Leber-Trockenpräparat.

Versuch:

30 g Acetonleber (entsprechend 210 g frischem Leberbrei) wurden 15 Stunden nach ihrer Gewinnung in 360 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung verteilt und sofort weiter verarbeitet.
Acetaldehyd = 3,23 mg.

30 g Acetonleber (von gleichem Ausgangsmaterial) + 360 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung + 3,0 g Calciumsulfit bei 37°. Nach 5 Stunden Destillation und quantitative Bestimmung.
Acetaldehyd = 7,09 mg.

30 g Acetonleber (von gleichem Ausgangsmaterial) + 345 ccm 0,9proz. NaCl-Lösung + (5 ccm m Brenztraubensäure + 10 ccm m/2 Natriumsulfit) bei 37°. Nach 5 Stunden Zusatz von 10 ccm m $BaCl_2$-Lösung, sowie von 5 g reinsten Calciumcarbonats; Aufarbeitung wie oben.
Acetaldehyd = 14,20 mg.

Im Einklange mit früheren Ergebnissen[1]) an frischen Organen bewirkt auch Acetonleber carboxylatische Spaltung von Brenztraubensäure, und es kommt zu einer Steigerung der Acetaldehydproduktion um nahezu das Dreifache gegenüber der pyruvinatfreien Kontrolle.

Anhang.

Versuche über die Acetaldehydbildung in Tumoren.

1. 150 g fein zerkleinertes Carcinom des großen Netzes (ungefähr zur Hälfte Tumormaterial, zur Hälfte Fettgewebe) + 500 ccm 0,9proz. Kochsalzlösung + 1,0 g Glucose bei 40°. Nach 5 Stunden Destillation, quantitative Bestimmung.
Acetaldehyd = 0,53 mg.

Ansatz 2. wie 1., unter Zugabe von 5 g Calciumsulfit. Nach 5 Stunden Aufarbeitung.
Acetaldehyd = 7,21 mg.

3. 180 g Brei von Uterusmyom (sehr derb) + 600 ccm 0,9proz. Kochsalzlösung + 1,2 g Traubenzucker; Temperatur 40°. Nach 5 Stunden Aufarbeitung und quantitative Bestimmung.
Acetaldehyd = 0,42 mg.

Ansatz 4. wie 3., Zufügung von 5 g Calciumsulfit. Nach 5 Stunden Aufarbeitung.
Acetaldehyd = 6,82 mg.

---

[1]) *M. Tschernorutzki*, diese Zeitschr. **43**, 486, 1912; *P. Mayer*, ebendaselbst **62**, 462, 1914; *B.* und *H. v. Euler*, H. **97**, 311, 1916; *K. Maeda*, diese Zeitschr. **143**, 347, 1923; *A. Gottschalk*, l. c.; *H. Wieland* und *H. Rau*, Ann. **436**, 235, 1924.

Zusammenfassung.

1. Durch Vorbehandlung von Kaninchenleber mit Aceton und Äther lassen sich Trockenpräparate herstellen, die noch 3,1 bis 3,9 Proz. vom Sauerstoffverbrauch des frischen Organs aufweisen.

2. Sowohl im 24-Stundenversuch als im 5-Stundenexperiment vollzieht sich in einer Aufschwemmung von solcher Acetonleber eine Bildung von Acetaldehyd.

3. Der Acetaldehyd entsteht in der Trockenleber durch einen obligat oxydativen Prozeß (Blausäurehemmung).

4. Eine Anhäufung von Acetaldehyd findet mit dem Dauermaterial auch ohne Zusatz eines Abfangmittels statt; hieraus kann auf eine Beeinträchtigung des Vorganges geschlossen werden, durch den Acetaldehyd normalerweise weiterverarbeitet wird.

5. Das Acetonpulver liefert ohne Abfangmittel ungefähr doppelt so viel Acetaldehyd wie die gleiche Menge frischen Organes (auf Trockensubstanz umgerechnet) mit Abfangmittel.

6. Das Trockenpräparat vermag aus zugefügter Brenztraubensäure Acetaldehyd abzuspalten (Carboxylase).

Zur Frage über den osmotischen Druck der hochmolaren Elektrolyte.

Von

Einar Hammarsten.

(Aus der physiologisch-chemischen Abteilung des Karolinischen Instituts zu Stockholm.)

(Eingegangen am 11. Juli 1924.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

In einer früheren Mitteilung[1]) habe ich zusammen mit *H. Hammarsten* die Aufmerksamkeit darauf gelenkt, daß mehrere hochmolare Elektrolyte einen osmotischen Druck haben, der kleiner ist als der, welcher der Ionisation entsprechen sollte. Die Frage wurde in zwei späteren Mitteilungen[2]) weiter verfolgt und eine Arbeitshypothese zur Erklärung des Phänomens von mir aufgestellt.

Die Absicht der vorliegenden Publikation ist nur, noch eine Gruppe, die Hydrochloride der genuinen Eiweißkörper, wo das eine Ion ein großes, das andere ein im Verhältnis dazu kleines Volumen hat, zu den vorher untersuchten hinzuzufügen.

Da es sich gezeigt hatte, daß die Lösungen der Chloride der basischen Eiweißkernstoffe Histon und Protamin einen osmotischen Druck zeigen, der kleiner ist als der allein für die potentiometrisch gemessene Cl-Ionenkonzentration berechnete, konnte man erwarten, daß die genuinen Eiweißstoffe sich ebenso verhalten würden. In der Tat sprechen auch einige Resultate von *J. Loeb*[3]) in dieser Richtung, wie ich schon in einer früheren Mitteilung hervorgehoben habe[4]). Bei der Berechnung seiner Resultate aus Messungen des osmotischen Druckes von Gelatinehydrochlorid in Salzsäure konnte nämlich *Loeb* zeigen, daß der allein für die Donnanverteilung der H- und Cl-Ionen berechnete Druck in Lösungen mit $p_H < 3$ größer war als der direkt gemessene, während in

[1]) *E.* und *H. Hammarsten*, Arkiv för Kemi, Mineralogi u. Geologi. Kungl. Svenska Vetenskapsakadem. 8, 27, 1923.

[2]) *E. Hammarsten*, diese Zeitschr. 144, 1924; *H. Hammarsten*, ebendaselbst 145, 1924.

[3]) *J. Loeb*, Proteins and the Theory of Colloidal Behavior 1922.

[4]) l. c. 2.

Lösungen, die weniger sauer waren, der in der erwähnten Weise berechnete Druck kleiner als der gefundene war (Abb. 1).

Loeb führt die hohe Lage der berechneten Kurve bis p_H = etwa 3 auf methodische Fehler oder zu große Approximation in seinen Berechnungen zurück. Nach meiner Ansicht kann diese Erklärung nur teilweise richtig sein. Wenn die relativ kleinen Cl-Ionen in Salzbindung mit den großen Eiweißkationen z. B. osmotisch vollständig unwirksam wären, dann würde man nämlich eben den allgemeinen Verlauf der beiden Kurven erwarten, wie ihn *Loeb* gefunden hat. Bei schwach saurer Reaktion und besonders in der Nähe des „isoelektrischen Punktes" können die Eiweißionen wohl einwertig und auch Eiweißmoleküle im Überschuß vorhanden sein. Auch wenn die Chlorionen in Eiweißbindung osmotisch unwirksam wären, müßte dann der gefundene Druck höher werden als der nur für die Chlorionen berechnete. Eine Umkehr müßte aber dann bei höherer C_H eintreten, wo hinreichend viele Eiweißmoleküle ionisierten und die Proteinionen vielwertig würden, denn nunmehr müßten auf mehrere osmotisch unwirksame Chlorionen nur ein osmotisch wirksames Proteinion kommen.

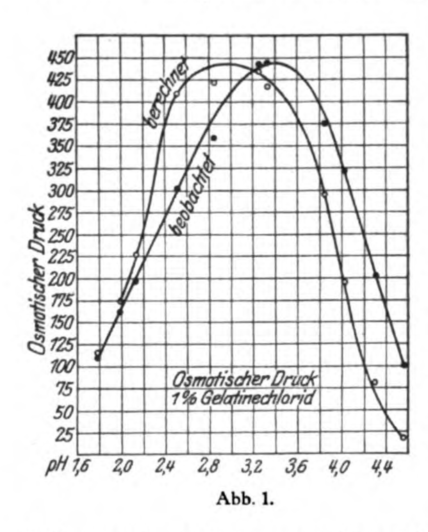


Abb. 1.

Um die Frage sicher zu entscheiden, habe ich genaue Gefrierpunktsmessungen an Lösungen von Eiweißchloriden gemacht.

Dreimal nach *Sörensen* umkristallisiertes Eieralbumin wurde unter 2 m Wasserdruck in großen Kollodiumhülsen gegen destilliertes Wasser zuerst bei isoelektrischer Reaktion einige Tage und dann nach Zusatz von Salzsäure zur Eiweißlösung 6 Wochen dialysiert (Zimmertemperatur, Toluol). Die Außenflüssigkeiten wurden jeden Tag durch destilliertes Wasser ersetzt. Nach den 6 Wochen gab 1 Liter der Außenflüssigkeiten nach Eindampfen zu etwa 20 ccm keine Reaktion auf Ammoniak mit *Nesslers* Reagens. Nach Zusatz von Natronlauge zu deutlich alkalischer Reaktion gegen Lackmus wurde in derselben Weise weiter dialysiert. bis 1 Liter der Außenflüssigkeiten nach Eindampfen zu 20 ccm keine Reaktion auf SO_4 gab. Die Innenflüssigkeiten wurden dann mit Salzsäure versetzt, bis sie ein p_H von ungefähr 3 zeigten, und wie oben beschrieben noch 4 Wochen dialysiert. Nach dieser Zeit war das Volumen der Eiweißlösung etwa ein Zehntel vom Anfangsvolumen und

die Reaktion isoelektrisch geworden. Diese Lösung, die wohl wahrscheinlich noch Spuren von Kochsalz enthielt, wurde nach Beseitigung des Toluols durch Filtrieren und Durchleiten von Luft zu Messungen der Gefrierspunktsdepression nach *Walker* und *Robertson*[1]) benutzt. Die Gefrierpunktsdepression wurde also in einer Flüssigkeit mit etwa 50 Proz. Eis im Gleichgewicht ohne jede Unterkühlung bestimmt. Zur Ablesung des Thermometers diente ein Kathetometermikroskop, in welchem ein Teilstrich der Skala 0,000 12^0 am Thermometer entsprach. Der Nullpunkt wurde vor und nach jeder Bestimmung mit Wasser und Eis eingestellt. Bei der vorsichtigen Behandlung des Thermometers, das während der notwendigen Ausspülungen und Füllungen des Analysengefäßes immer in einem Dewargefäß mit Eis + destilliertem Wasser stand, änderte sich der Nullpunkt nicht außerhalb des Ablesungsfehlers ($\pm$ 0,0001 bis 0,0002^0). Von den Lösungen der Eiweißhydrochloride wurden nach erreichter Temperaturkonstanz Proben mittels Ansaugung durch das Mikrofiltrum von der nächsten Umgebung der Thermometerkugel genommen und auf Stickstoff und (potentiometrisch) auf C_H und C_{Cl} analysiert. Ein Nachteil der Methode[2]) ist es, daß die Konzentrationen der Lösungen an Stickstoff nicht konstant gehalten werden konnten. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Diese fünf Versuche wurden mit zwei Eiweißlösungen ausgeführt, welche beide in der oben beschriebenen Weise, aber zu verschiedenen Zeiten bereitet worden waren. Die zwei Eiweißlösungen wurden mit A und B bezeichnet. Die Werte in den Kolonnen 5 und 6 bedeuten die berechnete Depression für Cl-Ionen in Eiweißbindung (Kolonne 5), und die gefundene für Eiweiß + Cl-Ionen in Eiweißbindung (Kolonne 6). Bei einer Reaktion, die saurer war als die isoelektrische, waren die nur für Cl-Ionen in Eiweißbindung berechneten Werte sehr weit außerhalb der Summe aller denkbarer Fehlerquellen höher als die für Eiweiß + Cl-Ionen in Eiweißbindung gefundenen, was in keiner anderen Weise gedeutet werden kann, als daß jedenfalls einige Cl-Ionen in Eiweißbindung osmotisch unwirksam waren. Die zwei ersten Werte in Kolonnen 5 und 6 zeigen ziemlich gute Übereinstimmung untereinander. Die berechneten Werte waren jedoch auch hier höher als die gefundenen. Wahrscheinlich beruht diese allerdings sehr kleine Abweichung auf der Temperaturdifferenz bei den Bestimmungen von C_H und C_{Cl} auf der einen Seite und von der Gefrierpunktsdepression auf der anderen. Auch könnte die Unsicherheit in den Messungen der Cl-Ionen ($\pm$ 5 Proz.), wenn sie zu hoch ausgefallen sind, für einen

[1]) *Walker* und *Robertson*, Zeitschr. f. physik. Chem. 47, 373, 1904.
[2]) l. c.

Nr.	Eiweiß-lösung	C_H bei 18°	C_{Cl} bei 18°	Gefrierpunktsdepression Δ: Ber. für $C_{Cl} - 2 . C_H$ $= \Delta_E$ ber.	Δ gef. $- 1{,}85 . 2 . C_H$ $= \Delta_E$ gef.	Gefunden $= \Delta$ gef.	G.-Stickstoff auf 1000 ccm = N	Δ_E gef./N	Δ_E ber./N
1	A . . .	$1{,}75 . 10^{-5}$	$2{,}03 . 10^{-3}$	$3{,}7 . 10^{-3}$	$3{,}0 . 10^{-3}$	$3{,}0 . 10^{-3}$	4,05	0,741 } 0,777	0,914 } 0,925
2	B . . .	$1{,}70 . 10^{-5}$	$2{,}11 . 10^{-3}$	$3{,}8 . 10^{-3}$	$3{,}3 . 10^{-3}$	$3{,}3 . 10^{-3}$	4,06	0,813	0,936
3	A . . .	$4{,}79 . 10^{-4}$	$16{,}7 . 10^{-3}$	$29{,}1 . 10^{-3}$	$17{,}9 . 10^{-3}$	$19{,}7 . 10^{-3}$	4,50	3,978	6,467
4	B . . .	$8{,}50 . 10^{-4}$	$17{,}7 . 10^{-3}$	$29{,}6 . 10^{-3}$	$14{,}5 . 10^{-3}$	$17{,}6 . 10^{-3}$	3,33	4,354	8,889
5	A . . .	$6{,}17 . 10^{-3}$	$35{,}3 . 10^{-3}$	$42{,}5 . 10^{-3}$	$22{,}0 . 10^{-3}$	$44{,}8 . 10^{-3}$	4,05	5,432	10,494

großen Teil der Differenzen verantwortlich sein. Diese beiden Fehlerquellen können aber selbstverständlich nicht die großen Differenzen bei den drei letzten Werten erklären. Die Kolonnen 9 und 10 zeigen, daß die gefundene Depression für Eiweiß + Cl-Ionen in Eiweißbindung ($\Delta_{E\,\text{gef.}}$) und die berechnete für Cl-Ionen in Eiweißbindung allein ($\Delta_{E\,\text{ber.}}$) pro Gramm Eiweißstickstoff in 1000 ccm mit der Wasserstoffionenkonzentration (Kolonne 3) stiegen, wobei das Verhältnis $\Delta_{E\,\text{gef.}}$/N bei den drei letzten Werten etwa halb so hoch war wie $\Delta_{E\,\text{ber.}}$/N. Zur Vergleichung mit den Kurven in Abb. 1 nach *J. Loeb* sind die Kurven in Abb. 2 gezeichnet.

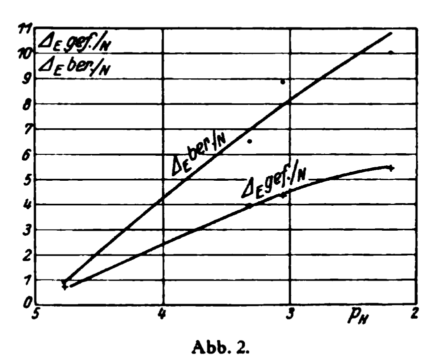


Abb. 2.

Ich will auch hervorheben, daß bei dem großen Volumen der Eiweißionen die Annäherung der positiven und negativen Ionen durch den Potentialsprung keine größere Bedeutung für die Erniedrigung des osmotischen Druckes haben kann; auch dann nicht, wenn die Eiweißionen polyvalent sind. In bezug auf diese Frage weise ich auf die Berechnungen von *H. Hammarsten*[1]) nach den Formeln von *Debye* und *Bjerrum* hin.

Die Analysen auf C_H, C_{Cl} und Stickstoff (nach *Kjeldahl*) sind von meiner Assistentin, Frau *G. Hammarsten*, ausgeführt worden.

[1]) l. c.

Besitzen eßbare Pilze antiskorbutische Wirkung?

Von

Hans Steidle.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Würzburg.)

(Eingegangen am 7. Juli 1924.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Über den Gehalt eßbarer Pilze an Vitaminen liegen nur wenige Mitteilungen vor [*Coward* und *Drummond*[1]); *Orton*, *McCollum* und *Simmonds*[2]); *di Mattei*[3]); *S. Hara*[4])]. Praktisches Interesse besitzt vor allem die Entscheidung der Fragen, ob in den Speisepilzen C-Vitamin in größeren Mengen vorhanden ist und ob sie bei der auch in der Nachkriegszeit, besonders in größeren Städten, immer noch drohenden Gefahr des Skorbuts zu dessen Verhütung bzw. nach Ausbruch der Krankheit zu ihrer Heilung herangezogen werden können. *Di Mattei* und *Hara* konnten allerdings bei eßbaren Pilzen eine antiskorbutische Wirkung nicht finden; ersterer verwendete einen Fluidextrakt aus getrockneten Pilzen, letzterer arbeitete aus äußeren Gründen mit getrockneten oder konservierten Pilzen. Aber sowohl das Trocknen und Aufbewahren eines Nahrungsmittels wie die Vorgänge beim Konservieren können unter Umständen den vollständigen Verlust an C-Vitamin herbeiführen; ferner sind dessen Löslichkeitsverhältnisse noch nicht genügend sicher ermittelt; schließlich darf man, da das je nach dem Ausgangsmaterial wechselnde Verhalten des C-Vitamins daran denken läßt, daß es sich dabei möglicherweise gar nicht um eine einzige, bestimmte antiskorbutisch wirkende Substanz handelt, die in einem Falle erhobenen Befunde nicht ohne weiteres verallgemeinern: infolgedessen ist es bei Prüfung eines hinsichtlich seines Gehaltes an C-Vitamin noch nicht untersuchten Materials notwendig, dieses in frischem und nach Möglichkeit rohem, unverändertem Zustand zu verwenden.

---

[1]) Biochem. journ. **15**, 530, 1921; ref. in Ber. über d. ges. Physiol. **10**, 388, 1922.

[2]) Journ. of biol. chem. **58**, 1, 1922.

[3]) Il policlinico (sez. med.) **30**, 221, 1923.

[4]) Diese Zeitschr. **142**, 79, 1923.

Ich prüfte daher in Zusammenhang mit einer größeren Reihe von Versuchen über pharmakologische Wirkungen und ernährungsphysiologische Bedeutung von höheren Pilzen frische Speisepilze auf antiskorbutische Wirkung. Sie wurden an wachsende Meerschweinchen, die eine C-Vitamin-freie oder daran wenigstens sehr arme Nahrung erhielten, verfüttert. Als Skorbut herbeiführende Kost wurden nicht enthülste Haferkörner und Leitungswasser in beliebiger Menge gewählt. Die bei Meerschweinchen infolge Mangels an C-Vitamin auftretenden pathologisch-anatomischen Veränderungen sind so charakteristisch, daß man diese einfache und in kurzer Zeit Skorbut hervorrufende Nahrung gebrauchen kann, obwohl sie für diese Tiere in mehr als dieser einen Hinsicht insuffizient ist.

I. Prüfung von Cantharellus cibarius Fries (Eierschwamm) auf antiskorbutische Wirkung.

Juni/August 1923. Zwölf im Wachstum befindliche Meerschweinchen von 170 bis 300 g Körpergewicht bei Versuchsbeginn. Die Tiere wurden einzeln gehalten; hochgehängter, für Hafer und Wasser geteilter Futtertrog; weitmaschiger Drahtboden zum Durchfallen der Fäzes; in einer Ecke eines jeden Käfigs befand sich ein stets sauber gehaltenes Holzbrett, auf dem die Tiere in der Regel saßen. Die Käfige standen wegen der Schreckhaftigkeit der Meerschweinchen in einem ruhigen und, wie es diese Tiere lieben, halb abgedunkelten Stall, in dem ständig eine Temperatur von ungefähr 17 bis 18° C herrschte. Täglich wurden die Meerschweinchen zur gleichen Zeit gewogen und dann gefüttert.

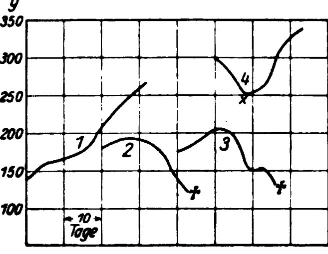
Frische Pilze wurden, wenn solche zu erhalten waren, täglich, mindestens aber jeden zweiten oder dritten Tag auf dem Würzburger Markt gekauft. Abwechselnd kamen kleine (1½ bis 3 g) und mittelgroße Formen zur Verwendung. Pilze, die von Maden bewohnt oder von Schnecken angefressen waren (usw.), wurden verworfen. Nach sorgfältiger Entfernung von anhaftenden Blättern, Nadeln, Erdteilen usw. wurden Portionen von je 2 g Gewicht mit ungefähr gleicher Beteiligung von Hut, Blättern und Stiel abgetrennt und diese in kleine Stückchen zerlegt, die dann mit einer feinen Pinzette an Meerschweinchen verabreicht wurden. Die Mehrzahl nahm nach anfänglichem Sträuben bald die Pilze gern an, so daß sie auf diese zwar einige Geduld erfordernde Art quantitativ verabfolgt werden konnten.

Erhalten wachsende Meerschweinchen von einem bestimmten Tag an ausschließlich Hafer und Wasser, so zeigt ihr Körpergewicht je nach dem Alter, der bisherigen Ernährung und der individuellen Konstitution[1]) ein

[1]) Ein gewisses Urteil über die *Konstitution eines Meerschweinchens* kann man aus seiner in längerer Beobachtungszeit und unter wechselnden Verhältnissen aufgenommenen Gewichtskurve gewinnen. Zunächst ist die Gewichtszunahme wachsender Meerschweinchen bei gleicher Lebenshaltung je nach deren Konstitution verschieden. Dann beeinflussen Änderungen in der Kost (Übergang zu Fütterung mit frischem Gras; Ersatz einer Graszulage durch Heu; Haferdiät), ferner leichtere Erkrankungen, wie ein Katarrh der oberen Luftwege, usw., in der Regel den Gewichtsverlauf. Unter Berücksichtigung der vorangegangenen Ernährung, von Alter und

verschiedenes Verhalten: während bei einem Teil der Versuchstiere das Gewicht noch eine Zeitlang (bis zu 12 Tagen) leicht ansteigt (Abb. 1, Kurve 2) oder wenigstens ungefähr konstant bleibt, setzt bei anderen sofort eine Abnahme desselben ein (Abb. 1, Kurve 4 und Abb. 2, bei a). Schließlich magern aber alle Tiere zusehends ab. Gegen das Ende tritt, meist verbunden mit starker Herabsetzung der bis dahin guten Freßlust, ein rapider Gewichts-

Abb. 1.
Ausschnitte aus Gewichtskurven von Meerschweinchen. Kurve 1. Meerschw. Nr. 25; junges, wachsendes Tier. Fütterung mit frischem Gras und Heu. — Die folgenden Kurven beginnen mit dem Einsetzen einer Hafer-Wasser-diät; bis dahin hatten die betreffenden Tiere ähnlich wie das der Kurve 1 ständig an Gewicht zugenommen. Kurve 2. Meerschw. Nr. 14. Tod am 23. Tag. Skorbut. Kurve 3. Meerschw. Nr. 15; aus demselben Wurf wie Tier Nr. 14 (Kurve 2); beide Männchen; beide gleich groß und schwer, stets unter den nämlichen äußeren Bedingungen und bei gleicher Kost gehalten gewesen. — Zulage von Cantharellus cibarius. Tod am 26. Tag. Skorbut. Kurve 4. Meerschw. Nr. 4. Ab × Zulage von Beta vulgaris var. rapacea. Ohne diese wäre nach dem Verlauf von Vergleichs-versuchen am 10. bis 11. Tag der Tod zu erwarten gewesen.



sturz auf; die Meerschweinchen gehen, nachdem sie oft nur 1 oder 2 Tage deutlich erkrankt waren (Nahrungsverweigerung; struppiges Fell; allgemeine Schwäche; erschwerte Atmung; Seitenlage mit Schwimmbewegungen usw.), an Skorbut zugrunde. Unter Umständen tritt der Tod noch rascher ein: Tiere, die morgens scheinbar nur etwas schwächlich sind, aber noch Futter zu sich nehmen, liegen manchmal schon 2 bis 3 Stunden später, mühsam nach Luft ringend, auf der Seite und verenden bald darauf.

An die zur Prüfung von Cantharellus cibarius ausgewählten Meerschweinchen war in den der Versuchsperiode vorausgegangenen Wochen frisches Gras (Wiesengräser) und über Winter gelagertes Heu verfüttert worden. Bei den Tieren nun, die zum Vergleich nur Hafer bekamen, war vor dem Abfallen ihres Gewichtes für einige Zeit ein leichtes Ansteigen desselben festzustellen (Abb. 1, Kurve 2). Das Körpergewicht der Tiere, denen gleichzeitig mit Einsetzen der Haferdiät Eierschwamm gegeben wurde (Abb. 1, Kurve 3), nahm zunächst ebenfalls zu und zwar schneller und 5 bis 7 Tage länger als das jeweils gleichaltriger Kontrolltiere. Dann allerdings verloren auch diese Meerschweinchen rasch an Gewicht und gingen 1 bis 3 Tage später als die betreffenden

---

bisheriger Entwicklung der Tiere kann man für jeden solcher Einflüsse durch Vergleiche ein Maß erhalten für seine gewöhnliche Einwirkung auf das Gewicht. Von diesen so ermittelten Durchschnittsergebnissen, die auf eine normale, gesunde Konstitution hinweisen, weichen nach Art und Größe deutlich die Störungen im Gewichtsverlauf bei schwächlichen und bei besonders kräftig veranlagten Tieren ab. Wird nun bei einem Meerschweinchen durch einen der erwähnten Umstände der Verlauf seiner Gewichtskurve beeinflußt, so kann man auch daraus einen Einblick in die Konstitution, Widerstandskraft und Reaktionsfähigkeit seines Organismus erhalten. Einen solchen zu besitzen bei Tieren, die zu Ernährungsversuchen verwendet werden sollen, ist bei der Auswahl und Zusammenstellung von Versuchs- und Kontrolltieren sowie für die Beurteilung der Versuchsresultate von Wichtigkeit.

Vergleichstiere an Skorbut zugrunde (Blutungen in der Umgebung der großen Gelenke, in Skelettmuskeln, besonders in der Streckmuskulatur der Unterschenkel, in der Darmwand; Brüchigkeit der Knochen; Lockerung der Backzähne usw.).

Wenn mit der täglichen Verabreichung von Eierschwamm an Meerschweinchen erst etwa 10 Tage vor dem zu erwartenden Ende begonnen wurde, zu einer Zeit, in der bei Vergleichstieren tägliche Zulage von einigen Gramm Runkelrübe (Beta vulgaris L. var. rapacea Koch; B. zonata)[1]), frischem Gras usw. noch Heilung oder wenigstens weitgehende Besserung herbeiführte, so war kein Einfluß auf die Gewichtskurve und den Verlauf des sich entwickelnden Skorbuts zu erkennen.

Die tägliche Verfütterung von 2 g frischem *Cantharellus cibarius* an wachsende, bei Haferkost gehaltene Meerschweinchen hatte also vorübergehend einen günstigen Einfluß auf ihren Stoffansatz und verlängerte deren Leben um kurze Zeit, *vermochte* aber *weder Skorbut zu verhüten noch* die ausgebrochene Krankheit zu bessern oder *zu heilen*.

Eine weitere Gruppe von Meerschweinchen sollte zur Prüfung von *Boletus edulis Bulliard* (*Steinpilz*) dienen. Juli 1923. — Bei einem Tier, an das vom Einsetzen der Haferernährung an täglich 2 g frischer Steinpilz verfüttert wurden, nahm das Gewicht in den ersten 5 Tagen 10,6 Proz. zu, während dieses bei einem gleichaltrigen und gleichschweren Kontrolltier, das Hafer und Wasser allein erhielt, in derselben Zeit nur um 4,1 Proz. anstieg. — Eine Durchführung der geplanten Versuche, die eine eventuell vorhandene antiskorbutische Wirkung des Boletus edulis erkennen lassen sollten, war nicht möglich, da frische Steinpilze in jener Zeit infolge ungünstiger Witterung auf einmal nicht mehr zu bekommen waren.

Um derartige Störungen zu vermeiden, wurden Versuche mit Zuchtchampignons, die regelmäßig zu erhalten waren, angestellt.

II. Prüfung von Psalliota campestris Linné (Wiesenchampignon) auf antiskorbutische Wirkung.

Februar/März 1924. Sieben wachsende Meerschweinchen von 200 bis 450 g Gewicht. Die Käfige, die in einem bei Tag und Nacht gleichmäßig erwärmten Zimmer (15 bis 16° C) standen, wurden mit einem genügend Licht und Luft durchlassenden Vorhang teilweise zugedeckt.

Die von Erich Hullen A.-G., Erlangen, bezogenen Pilze — es handelte sich um eine blonde Abart des weißköpfigen Zuchtchampignons — wurden von dort zweimal in der Woche abgeschickt und kamen hier stets am anderen Tag in frischem Zustand an. Sie wurden in einem mäßig erwärmten Raum (12 bis 14° C) aufbewahrt; da die Wirkung niederer Temperaturen auf C-Vitamin noch nicht genau bekannt ist, unterblieb ein Aufheben der

---

[1]) Die verwendeten Runkelrüben stammten aus der Umgebung von Würzburg und waren nahezu kugelförmig; sie wirkten sogar dann, wenn mit ihrer Verabreichung erst 2 bis 3 Tage vor dem drohenden Tode begonnen wurde, lebensrettend (Abb. 1, Kurve 4).

Pilze im Eisschrank, um einen möglicherweise ungünstigen Einfluß der Kälte zu vermeiden. Zur Prüfung wurden Pilze mit einem Gewicht von 5 bis 12 g ausgesucht. Die Meerschweinchen, die zu Hafer und Wasser Pilzzulage erhielten, bekamen täglich gegen Abend 3 g klein geschnittenen Champignon mit nur 8 bis 10 g Hafer vermischt vorgesetzt; sie nahmen dieses Futter im Laufe des Abends und der Nacht zu sich und durften sich dann am anderen Morgen mit Hafer sättigen.

Die zur Prüfung von Psalliota campestris verwendete Gruppe von Meerschweinchen war vorher mit Heu und Runkelrüben gefüttert worden. Bei den Tieren, die zur Kontrolle nur Hafer und Wasser erhielten, fiel das bis dahin steigende Körpergewicht sofort mit Beginn dieser Kost; der Tod trat schon am zehnten bis elften Tag ein; bei der Obduktion wurden deutliche Zeichen von Skorbut gefunden. Wurde dagegen auch Champignon verfüttert, so blieb das Gewicht meist noch einige Zeit (bis zu 7 Tagen) konstant, der dann einsetzende Abfall war weniger steil als bei den Vergleichstieren; der tödliche Ausgang erfolgte 1 bis 4 Tage später. Diese vorübergehend bestehende günstige Beeinflussung von Gewicht und Widerstandsfähigkeit der Meerschweinchen durch die Pilzverfütterung konnte man vor allem bei Tieren erkennen, die Hafer einmal ohne und ein andermal mit Pilzzulage erhielten (Abb. 2).

Abb. 2.
Ausschnitt aus der Gewichtskurve von Meerschweinchen Nr. 26.

a) Beginn einer Haferdiät. Das bis dahin ständig gestiegene Körpergewicht des Tieres fing sofort zu fallen an. b) An diesem und den nächsten Tagen wurden Hafer und Runkelrüben verfüttert. Das Gewicht erreichte wieder die frühere Höhe. c) Abermals Einsetzen einer Haferdiät. Zulage von Psalliota campestris. Jetzt blieb das Gewicht eine Woche lang konstant. — Tod am 14. Tag. Skorbut.

Die Meerschweinchen, die Pilze bekamen, erhielten diese stets von Beginn der Haferernährung an; trotzdem starben sämtliche an typischem Skorbut. Auch *Psalliota campestris konnte also das Auftreten von Skorbut nicht verhüten.*

Die verabreichten Mengen von Eierschwamm und Champignon waren wohl hinreichend, um einen einigermaßen bedeutenden Gehalt an C-Vitamin deutlich erkennen zu können. Da diese Substanz bei einzelnen Nahrungs- und Futterstoffen in manchmal recht wechselndem Grade vorkommt, erscheint es allerdings nicht ausgeschlossen, daß die genannten Pilze bei besonderen Ernährungsverhältnissen, in bestimmter Entwicklungsperiode usw. doch dieses Vitamin besitzen. Darüber wie auch über die Frage, wieweit es sich bei anderen Speisepilzen vorfindet, müssen gesonderte Untersuchungen entscheiden. Sollten jedoch auch diese sämtlich zu negativen Resultaten führen, so liegt es nahe, das Fehlen von C-Vitamin in den eßbaren Pilzen mit ihrem

Freisein von Chlorophyll in Zusammenhang zu bringen. Manche Befunde weisen ja bereits darauf hin, daß Beziehungen zwischen dem C-Vitamin und diesem Farbstoff bestehen. —

Der vorübergehend günstige Einfluß, den die Verfütterung der Pilze auf Gewicht und Stoffansatz der Meerschweinchen sowie deren Lebensdauer und Widerstandsfähigkeit gegen die Schädigungen der qualitativ ungenügenden Ernährung ausübte, konnte zum Teil auf einer reichlicheren Aufnahme von Nahrung und einer besseren Ausnutzung derselben beruhen; dies mochte veranlaßt sein durch eine Steigerung der Freßlust der Tiere und eine regere Tätigkeit ihrer Verdauungsdrüsen infolge des für die meisten Meerschweinchen sichtlich angenehmen Geschmacks der Pilze und der durch sie bewirkten Abwechslung in ihrer Ernährung. Ferner waren für die angegebenen Wirkungen vielleicht Substanzen verantwortlich, die für das Leben junger Meerschweinchen, insbesondere für ihr Wachstum[1]) wichtig sind. Von wesentlich geringerer Bedeutung dürften bei den kleinen Mengen der verfütterten Pilze ihre anorganischen Bestandteile und spezifischen Eiweißkörper gewesen sein.

Zusammenfassung.

Für den Wert der Speisepilze als Nahrungsmittel kommt nach neuen Untersuchungen auch ihr Gehalt an Vitaminen in Betracht. Die Frage, ob in ihnen auch C-Vitamin vorhanden ist, konnte bisher nicht beantwortet werden. Das negative Ergebnis einiger Untersuchungen war für das Fehlen dieses Stoffes in den Pilzen nicht beweisend, da die betreffenden Versuche mit getrocknetem Material ausgeführt wurden, durch das Trocknen aber die Möglichkeit einer Zerstörung von C-Vitamin gegeben war.

Es wurden daher Speisepilze im frischen Zustand in Fütterungsversuchen an Meerschweinchen auf einen Gehalt an dieser Substanz geprüft. Untersucht wurden Cantharellus cibarius Fr. (Eierschwamm) und Psalliota campestris L. (Wiesenchampignon). Bei beiden Pilzen wurde das Fehlen jeder antiskorbutischen Wirkung festgestellt.

---

[1]) Siehe auch die auf S. 181 zitierten Arbeiten.

Über kolloidchemische Fett-Lipoidwirkungen.

Von

Fritz Eichholtz.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.)

(Eingegangen am 2. Juni 1924.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

In einer früheren Arbeit[1]) wurde gezeigt, daß von den Fetten und Lipoiden im Serum starke Adsorptionswirkungen ausgehen. Dieser Nachweis ließ sich führen mit Hilfe der *Plateau*schen Kompaßmethode dadurch, daß die Veränderungen der Oberflächenhäutchen von Eiweiß-, Saponin- und Serumlösungen verfolgt wurden. Es ergab sich, daß sich diese Oberflächenhäutchen durch Zusatz geringer Mengen von Fetten und Lipoiden zertrümmern ließen. Diese Arbeit erschien um so wichtiger, als sie eine Methode angab, die es gestattete, quantitativ die physikalischen Lipoidwirkungen im Plasma zu erfassen, sie bedeutete gleichzeitig den ersten Schritt, durch Bestimmung der Adsorptionswirkungen des Plasmas der Frage näher zu kommen, inwieweit die Eigenschaften der zellulären Grenzflächen gegenüber chemischen Verwandtschaften, Löslichkeitskoeffizienten, Ionenwirkungen usw. durch physikalische Adsorptionswirkungen bedingt werden.

Es entstand nun die Frage, ob diese Fett-Lipoidwirkung sich ebenso erstreckt auf die in der Lösung befindlichen Kolloidkomplexe, und es lag nahe, sich hierzu den Fermentreaktionen zuzuwenden. Denn mit Euler[2]) können wir annehmen, daß alle Gesetzmäßigkeiten, die sich bei der Kinetik kolloider Körper ergeben, sich in der einen oder anderen Form auch bei den enzymatischen Reaktionen wiederfinden. Es kommt hinzu, daß die Bedeutung der Lipoide für den Ablauf biologischer Vorgänge immer mehr ins Licht tritt, während gleichzeitig über die Beeinflussung der Fermentvorgänge durch die Substanzen nur sehr dürftige Kenntnisse bestehen.

Daß alle chemischen Substanzen, wenn sie eine gewisse Konzentration erreichen, Fermentprozesse in schädlichem Sinne beeinflussen, ist allgemein bekannt. So stellen in besonderem Maße Fette und

---

[1]) *F. Eichholtz*, diese Zeitschr. 128, 310, 1922.
[2]) *H. v. Euler*, Ber. d. deutsch. chem. Ges. 55, 3583, 1922.

Lipoide negative Katalysatoren dar. Daß dagegen diese Substanzen Fermentprozesse beschleunigen können, dafür gibt es bislang nur wenig sichergestellte Beobachtungen.

Versuche über Katalase.

Die Katalase scheint zu derartigen Versuchen, die den kolloiden Faktor der Fermentwirkung erfassen wollen, besonders geeignet. Denn trotzdem ihre Wirkung sehr einfachen Gesetzen folgt und innerhalb gewisser Konzentrationen wegen der einfachen Beziehungen zwischen Fermentkonzentrationen, Wasserstoffsuperoxydkonzentrationen und Reaktionsgeschwindigkeit als eine Reaktion erster Ordnung erkannt worden ist [*Senter*[1])], so sind doch immer wieder neue Eigenschaften dieses Ferments aufgedeckt worden, die eine stark kolloide Komponente beweisen.

So haben *Waentig* und *Steche*[2]) die Tatsache erklärt, daß bei einzelnen Katalasepräparaten mit fortschreitender Reaktion ein starker Gang entwickelt wird, der sich bei anderen Fermenten nicht nachweisen läßt. In gleicher Weise muß die starke Beeinflussung, die die Katalasewirkung durch Neutralsalze erfährt [*Michaelis* und *Pechstein*[3])] angesehen werden als ein Einfluß auf den kolloiden Zustand der unelektrischen Teile des Ferments. *Spiro*[4]) hat gezeigt, daß die Neutralsalzwirkung durch die Reihe SO_4, Cl, NO_3, Na, Mg dargestellt wird, mithin völlig im Sinne der *Hofmeister*schen Reihe erfolgt, und daß daher die Herabsetzung der Dispersität auf einer Verkleinerung der aktiven Oberfläche des Ferments beruht, eine Erscheinung, die in genereller Weise von *Neuschloss*[5]) untersucht wurde. Auch die Abhängigkeit der Katalasewirkung von der H-Ionenkonzentration gibt einen starken Anhalt für die kolloide Natur des Katalasekomplexes.

Sörensen[6]) hatte ein Optimum zwischen 6,5 und 7,5 angenommen, aber Versuche von *Michaelis* und *Pechstein*[7]) wiesen nach, daß das Optimum weitaus breiter ist und zwischen p_H 6,0 und p_H 9,70 liegt, was offenbar in der stark kolloiden Natur der Katalase begründet ist. Darauf deuten auch Versuche von *Senter*, aus denen ein außerordentlich geringer Temperatureinfluß hervorging.

Methode.

Serumlösungen vermögen in den meisten Fällen Wasserstoffsuperoxyd zu zersetzen. Daß diese Fähigkeit damit zusammenhängt, daß rote Blutkörperchen in Lösung gegangen sind, daß dagegen reines Serum niemals Sauerstoff entbindet, diesen Nachweis haben wir *Senter*[8]) zu verdanken; er ist von *Beck*[9]) bestätigt worden. Immerhin

---

1) *G. Senter*, Zeitschr. f. physikal. Chem. **44**, 257, 1903.
2) *P. Waentig* und *O. Steche*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **79**, 446, 1912.
3) *L. Michaelis* und *H. Pechstein*, diese Zeitschr. **58**, 320, 1913.
4) *K. Spiro*, ebendaselbst **93**, 384, 1919.
5) *S. M. Neuschloss*, Arch. f. ges. Physiol. **181**, 45, 1920.
6) *S. P. L. Sörensen*, diese Zeitschr. **21**, 131, 1909.
7) *L. Michaelis* und *H. Pechstein*, a. a. O.
8) *G. Senter*, a. a. O.
9) *E. C. Beck*, Journ. of gen. Physiol. **46**, 171, 1919.

lassen sich die nachfolgenden Tatsachen besser mit verdünnter, durch Erythrocytenkatalase verunreinigter Serumlösung darstellen als mit lackfarbigem Blute.

Menschen-, Kaninchen- oder Hundeserum wurde im Verhältnis 1 : 10 mit Wasser verdünnt. 2 ccm hiervon wurden in die Birnen des *Barcroft*-Differentialapparates eingefüllt, mit 1 ccm Wasser bzw. Fett-Lipoidlösung versetzt und in das obere Röhrchen nach Ansetzen der Birnen 0,5 ccm einer 1 proz. H_2O_2-Lösung (Perhydrol Merck) eingefüllt. Hierauf wurde der Apparat geschlossen, nach 2 Minuten Temperaturausgleich von Minute zu Minute geschüttelt, bis kein Ausschlag mehr erfolgte, und wiederum das Manometer ausgeglichen. Nunmehr ließ man die H_2O_2-Lösung einfließen. Es wurde 5 Minuten andauernd geschüttelt und nach weiteren 2 Minuten abgelesen.

Die gasometrische Methode der Katalasebestimmung eignet sich besonders für stärkere Serumlösungen, wo die Titration mit Kaliumpermanganat ungenaue Werte ergibt. Immerhin arbeitet man auch hier mit gewissen Fehlerquellen. Insbesondere die Adsorption des entwickelten Sauerstoffs durch Lipoidpartikel kann eine große Rolle spielen. So wurden in einem Parallelversuch auf der einen Seite eine Fettemulsion 1 : 400 zugefügt, die durch mechanische Zerteilung durch Schütteln hergestellt war, auf der anderen Seite eine kolloide Fettlösung gleicher Konzentration. Es ergab sich:

Zersetzte H_2O_2-Menge gegen fettfreie Katalaselösung.

Lösung I	+ 17 Proz.	p_H 6,7
„ II	− 10 „	p_H 6,7

Die gleiche Erscheinung läßt sich feststellen, wenn man Fettlösungen verschiedener Dispersität in den Differentialapparat einführt. Auf beiden Seiten tritt Gasabsorption ein, die auf der Seite des feindispers verteilten Fettes besonders stark ist. So hat auch *Itami*[1]) festgestellt, daß lipämisches Serum eine starke Sauerstoffzehrung zeigt. Es ergibt sich demnach, daß die Adsorption des Sauerstoffs besonders groß wird, wenn man kolloide Lösungen der Lipoide benutzt. Hier kann das Nebeneinander von Sauerstoffentwicklung und Sauerstoffabsorption jede Ablesung unmöglich machen. Die Fett-Lipoidlösung wurde infolgedessen so dargestellt, daß eine gewisse Menge der Substanz in ein definiertes Quantum destillierten Wassers eingebracht wurde, und daß man so lange schüttelte, bis die gesamte Substanz in feiner Emulsion verteilt war.

Weitere Fehlerquellen, Bakterienwirkung, Fremdkörper ließen sich dadurch ausschalten, daß Kontrollen ohne Katalasen angestellt wurden. Die so ausgebaute Methode lieferte gleichmäßige Resultate.

Die gasometrische Methode hat den großen Nachteil, daß sie sehr zeitraubend ist, da gleichzeitig nur eine Differentialbestimmung gemacht werden kann. Es wurde infolgedessen in späteren Versuchen die titrimetrische Methode mit Kaliumpermanganat angewandt.

---

[1]) *S. Itami*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 62, 94, 1909.

Zu diesem Zwecke wurden bis zu 24 Erlenmeyerkolben, die mit destilliertem Wasser gereinigt waren, in eine gleichzeitige Versuchsreihe einbezogen. In jeden dieser Kolben wurde 1 ccm der Katalaselösung (z. B. Blutlösung 1 : 1000) eingefüllt und mit 1 ccm Wasser bzw. Fett-Lipoidemulsion versetzt. Dann wurde die ganze Reihe mit einem Intervall von 15 Sekunden von Kolben zu Kolben mit n/200 H_2O_2-Lösung versetzt und nach 5 Minuten, wieder beim ersten Kolben anfangend, der Prozeß mit 5 ccm n/2 H_2SO_4 abgebrochen. Das nicht zersetzte H_2O_2 wurde dann mit n/100 $KMnO_4$ zurücktitriert. Für große Serienversuche ist diese zweite Methode geeigneter. Sie liefert ebenso gleichmäßige Resultate.

Durch die Arbeiten von *Sörensen*[1]), *Michaelis* und *Pechstein*[2]), *Rona*[3]) wurde nachgewiesen, daß die Katalasewirkung abhängig ist von der Reaktion der Lösung. Obwohl nun in den vorliegenden Versuchen die Wasserstoffzahl nur wenig verschoben wurde, und obwohl praktisch eine Verschiebung der Reaktion von 6,5 auf 9,0 die Katalasewirkung kaum verändert, wurde doch in den meisten Versuchen die Reaktion mittels der Indikatorenmethode von *Michaelis* bestimmt.

Das Arbeiten mit derartigen physiologischen Kolloidmischungen könnte gewissen Widerspruch auslösen. Es könnte die Frage aufgeworfen werden, ob nicht zweckmäßiger gereinigte Katalaselösungen angewandt würden. Demgegenüber ließe sich darauf hinweisen, daß der kolloide Zustand der Fermente im Organismus in Wechselwirkung steht mit dem Milieu, und daß ganz abgesehen davon, daß es zurzeit unmöglich ist, Katalaselösungen frei von Begleitkolloiden darzustellen, jeder Eingriff in das kolloide Milieu zu Veränderungen der kolloiden Fermente führen muß. Damit ist gleichzeitig verbunden, daß durch die vorliegenden Untersuchungen keine Entscheidung darüber gebracht wird, ob es sich um eine Beeinflussung der Fermentreaktionen unmittelbar, oder durch Vermittlung des kolloiden Milieus handelt.

Versuche.

Die vorliegenden Versuche wurden angestellt in den Jahren 1922 und 1923 in den pharmakologischen Instituten der Universitäten Rostock und Freiburg i. Br. Die Ergebnisse stützen sich auf mehrere Tausend Einzelbestimmungen. Diese Weitschweifigkeit ist darin begründet, daß die dargestellten Kolloidreaktionen nicht mit völliger Sicherheit reproduzierbar sind. Es gibt Serumlösungen, die jeden Versuch scheitern lassen. Diese Schwierigkeiten sind auch von anderen Autoren anerkannt worden [*Waentig* und *Steche*[4])], und ein gewisser Einblick in das Wesen dieser Vorgänge ist uns durch die

---

[1]) *Sörensen*, a. a. O.
[2]) *Michaelis* und *Pechstein*, a. a. O.
[3]) *P. Rona* und *A. Damlovicanu*, diese Zeitschr. **134**, 20, 1923.
[4]) *P. Waentig* und *O. Steche*, a. a. O.

Arbeiten von *Storm van Leeuwen*[1]) vermittelt worden, der ausgesprochene Kolloidreaktionen des Blutes durch geringfügige Eingriffe verhindern oder verschieben konnte. Immerhin ist in den vorliegenden Versuchen die Zahl der positiven Befunde genügend groß, um ein klares Bild vom Wesen der Vorgänge zu erhalten.

A. Versuche mit frischer Serum- bzw. Blutlösung.

Es läßt sich leicht feststellen, daß die Katalaselösung von frischer Serum- bzw. Blutlösung durch Fette und Lipoide im Sinne einer negativen Katalyse beeinflußt wird. Indessen ist der Grad der Beeinflussung, wahrscheinlich infolge der kolloiden Vorgänge, auf die diese Versuche hinzielen, außerordentlich verschieden.

So wurden zu Blutlösungen, die von verschiedenen Tieren gewonnen waren, pro Kubikzentimeter 0,2 einer Ölsäureemulsion 1 : 4000 zugefügt, 10 ccm n/100 H_2O_2-Lösung zugesetzt und die Reaktion nach 5 Minuten abgebrochen. Die Verlangsamung durch die Fettsäure betrug 5, 2,5, 3, 3, 0, 3 Proz. Es wurde ein Fall beobachtet, in dem durch einen Gehalt an Fettsäuren in einer Konzentration 1 : 40000 eine Verlangsamung von 5 Proz., bei einer anderen Blutprobe die gleiche Verlangsamung durch eine Konzentration 1 : 400 eintrat. Die gleiche Erscheinung war bei Triolein und Lecithin zu finden. Es wird also bei frischer Blutlösung die Tatsache bestätigt, daß Fette und Lipoide negative Katalysatoren sind, und wir folgen damit den Untersuchungen von *Lapidus*[2]), *Bang*[3]), *Starkenstein*[4]), *Küttner*[5]) *Buchner* und *Antoni*[6]) u. a., die ebenfalls unter bestimmten Versuchsbedingungen eine verzögerte Wirkung auf fermentative Prozesse feststellten.

B. Versuche mit gealterter Serumlösung.

Aus den früheren Untersuchungen ging hervor, daß die Zusammenlagerung der oberflächenaktiven Substanzen zu Oberflächenhäutchen erst allmählich erfolgt. Daß diese Zusammenlagerung von kolloiden Teilchen auch in der Lösung erfolgt, ist eine naheliegende Annahme, und Beispiele dafür sind jedem Forscher geläufig, der sich mit kolloiden Substanzen beschäftigt. Handelt es sich doch bei der Vergröberung der kolloiden Struktur um einen Vorgang, der in prinzipieller Weise

[1]) *W. Storm v. Leeuwen* und *A. v. Scent Györgyi*, Journ. of Pharm. and exper. Ther. **18**, 271, 1921.
[2]) *H. Lapidus*, diese Zeitschr. **30**, 1, 1910.
[3]) *J. Bang*, ebendaselbst **32**, 417, 1911. Ergebn. d. Physiol. **8**, 463, 1909.
[4]) *E. Starkenstein*, diese Zeitschr. **33**, 423, 1911.
[5]) *S. Küttner*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **50**, 472, 1903; **52**, 63, 1907.
[6]) *E. Buchner* und *W. Antoni*, ebendaselbst **46**, 136, 1905.

die Kolloide von der molekularen Lösung unterscheidet. Es liegt daher nahe, anzunehmen, daß auch beim Stehenlassen einer Serumlösung Kolloidveränderungen im Sinne einer Dispersitätsvergröberung vor sich gehen. In der Tat stellte sich bei derartigen gealterten Lösungen ein fundamentaler Gegensatz heraus, wenn man sie mit Emulsionen von Fetten und Lipoiden behandelte. Im Gegensatz zur frischen Lösung wurde die Katalasewirkung gealterter Serum- und Blutlösungen durch diese Emulsionen zum Teil erheblich verstärkt. Es wurden Verbesserungen bis zu 30 Proz. beobachtet, immerhin wurden die Katalasewerte der frischen Lösung nicht wieder erreicht. So wurden bei Untersuchungen der Fettwirkung auf gealterter Serumkatalaselösung mittels der Barcroftmethode folgende Verbesserungen erzielt:

Versuch Nr.	Fettseite p_H	Normalseite p_H	Verbesserung auf der Fettseite Proz.
1	6,40	6,45	10
2	6,50	6,45	9
3	6,35	6,35	17
4	6,30	6,40	8
5	6,35	6,35	7
6	6,40	6,50	14

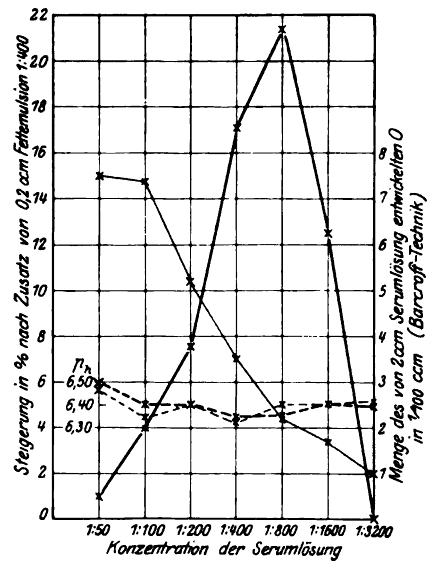


Abb. 1. — — — p_H auf Normalseite.

In gleicher Weise wurden Untersuchungen mit anderen Substanzen angestellt, die folgendes Resultat ergaben. Es wurde erzielt eine *starke Verbesserung* bei Ölsäure, ölsaurem Natrium, Caprylalkohol, *mittlere oder geringe Verbesserung* bei Triolein und Lecithin, *keine Verbesserung* bei Stearin und Palmitinsäure, Stearin und Tripalmitin, Cholesterin, kolloider Kohle und kolloider Kieselsäure (*Heyden*).

Welche außerordentlich geringe Mengen unter Umständen dazu gehören, diese Verbesserung der Katalasewirkung zu erzielen, geht aus den folgenden Versuchen mit Natriumoleat hervor. Zu 0,5 ccm frischer Blutlösung 1 : 400 wurden 0,3 ccm 1 proz. Natriumoleatlösung gesetzt, der Mischung 10 ccm n/200 H_2O_2-Lösung zugefügt und die Katalasewirkung nach 10 Minuten abgebrochen. In keinem Falle wurde bei frischem Blute eine Verbesserung erzielt.

Über die Verbesserung von gealterter Katalaselösung nach 24stündigem Stehen bei 16° gibt Abb. 1 Auskunft.

Noch in einer Verdünnung 1 : 12800 ergibt Natriumoleat eine verbesserte Katalasewirkung. Die Verbesserung trat nicht ein auf Zusatz von Natriumcarbonat, ist also nicht bedingt durch Verschiebung der Reaktion.

In welcher Weise ist nun jene Veränderung des kolloiden Zustandes, die durch Fette und Lipoide reversibel ist, abhängig von der Verdünnung der Serumlösung? Diese Frage wurde in einer weiteren Versuchsreihe mit Hilfe der Barcroftmethode entschieden, deren Ergebnis durch Abb. 2 wiedergegeben wird.

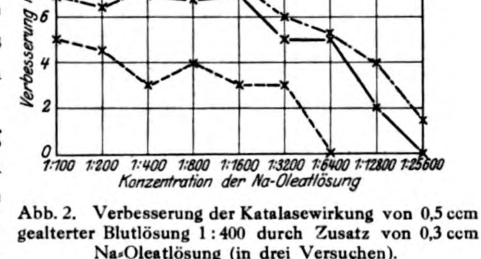


Abb. 2. Verbesserung der Katalasewirkung von 0,5 ccm gealterter Blutlösung 1 : 400 durch Zusatz von 0,3 ccm Na-Oleatlösung (in drei Versuchen). ——— Versuch 1. – · – · – Versuch 2. — — — Versuch 3.

Die optimale Verdünnung liegt also zwischen 1 : 400 und 1 : 1600 der Serumlösung. Die Reaktion der Lipoid- und Vergleichslösung befindet sich zwischen p_H 6,30 und p_H 6,50.

Schon früher wurde darauf hingewiesen, daß die fraglichen Kolloidveränderungen sich erst allmählich beim Altern der Lösung entwickeln. Die zeitliche Abhängigkeit wird in Abb. 3 wiedergegeben.

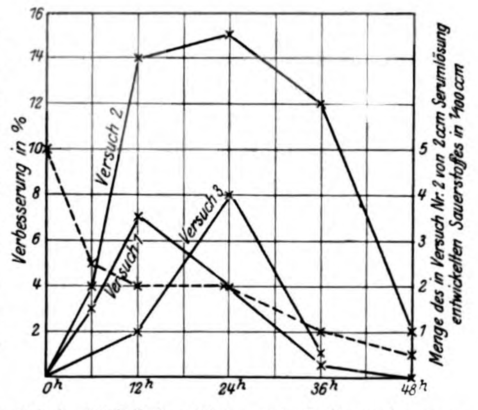


Abb. 3. Einfluß des Alterns auf die Fettverbesserung. Serumkonzentration 1 : 400. Zusatz von 0,2 ccm Fettemulsion 1 : 400.

In 6 bis 24 Stunden entwickelt sich demnach gleichzeitig mit starkem Absinken der Katalasewirkung ein Optimum der Fettverbesserung.

Sämtliche Versuche wurden bei Zimmertemperatur angestellt. Dabei erwies sich, daß in den heißen Monaten bei Temperaturen über 19° in keinem Falle eine Verbesserung durch Fett-Lipoidsubstanzen zu beobachten war. Wenn überhaupt Unterschiede auftraten, lagen sie im Sinne einer negativen Katalyse.

Wir ziehen aus den vorliegenden Untersuchungen den Schluß, *daß sich bei Altern von Serum- und Blutlösungen neben einer allmählichen Zerstörung der Katalase Veränderungen des kolloiden Zustandes dieses Enzyms entwickeln, die auf Fette und gewisse Lipoide reversibel sind.* Damit tritt nunmehr die Frage auf, auf welche Eigenschaft der Fette und Lipoide diese fördernde Wirkung auf alternde Katalaselösung bezogen werden muß. In einer früheren Abhandlung ist gezeigt worden, daß von diesen Substanzen starke Adsorptionskräfte ausgehen, und das Bestreben lag nahe, die gleichen Befunde bei anderen kolloiden Adsorbenzien zu erheben. Aber weder mit kolloider Kohle, noch mit kolloider Kieselsäure wurde eine Verbesserung erzielt. Die Versuche wurden mit der manometrischen Technik mit Serumlösung angestellt, die auf Fettemulsion beträchtliche Verbesserung aufwies.

Auf eine weitere Möglichkeit deuteten die Versuche von *Bayliss*[1]), in denen er zeigte, daß durch Mittel, die die Oberflächenspannung herabsetzen, die Dispersion der Kolloide gesteigert wird. Auf diesem Wege verbessert Caprylalkohol die Ureasewirkung, gallensaure Salze die der Lipase.

Nun hat *Meyerhof*[2]) demgegenüber die Beobachtung gemacht, daß die höheren Homologen des Alkohols fermentative Umsetzungen verzögern, und zwar in dem Maße, wie sie die Oberflächenspannung erniedrigen. Er erklärt das damit, daß sie die angreifbare Substanz von der Enzymoberfläche verdrängen. In der Tat wird diese Feststellung von *Meyerhof* bestätigt, wenn man Caprylalkohol zu frischer Blut- bzw. Serumlösung setzt. Es tritt eine Verzögerung der H_2O_2-Spaltung ein. Indessen verkehrt sich das Bild wieder in das Gegenteil, wenn man gealterte Blutlösung nimmt. Die Versuche ergaben folgendes:

Versuch Nr.	Verbesserung durch Fettsäureemulsion 1 : 400 Proz.	Verbesserung durch Caprylalkohol 1 : 400 Proz.
1	0	4
2	5	5
3	4,5	2
4	0	2
5	5	8
6	3	3

Es ergibt sich demnach, daß die Verbesserung der Katalasewirkung durch Caprylalkohol sogar in stärkerem Maße auftritt als die durch Fettsäure.

Damit ist der Anschluß an die Versuche von *Bayliss* gewonnen und nachgewiesen, daß die Verbesserung der Katalasewirkung durch Fette

[1]) *W. M. Bayliss*, Naturwissenschaften **10**, 983, 1922.
[2]) *O. Meyerhof*, Pflüg. Arch. **157**, 307, 1914.

und Lipoide zurückzuführen ist auf eine Dispersitätsveränderung der kolloiden Komplexe. Dabei steht dahin, ob eine unmittelbare Dispersitätsänderung der aktiven Fermentteilchen vorliegt. Es liegt näher, daran zu denken, daß die Versuche sich nicht mit reinen Substanzen befassen, sondern mit einem komplexen System, in dem Adsorptionsvorgänge zwischen den verschiedenen Kolloiden untereinander vor sich gehen. So kamen auch *Waentig* und *Steche*[1]) zu dem Schluß, daß mit großer Wahrscheinlichkeit Teilchen des einen Kolloids — vielleicht in Form einer Schutzhülle — sich den Teilchen des zweiten Kolloids anlagern, und daß diese Primärkomplexe sich weiter zu größeren Komplexen zusammenschließen. Die Wahrscheinlichkeit liegt nahe, daß die Verbesserung der Katalasewirkung in erster Linie durch Aufspaltung derartiger sekundärer Komplexe erfolgt.

Die Einsicht in die physiologische Bedeutung der *Zellipoide* ist seit *Meyer* und *Overton* Allgemeingut geworden und besonders von *Jarisch*[2]) wurde die Tatsache ins Licht gerückt, daß die Zellipoide schon in einer Verdünnung physiologische Wirkungen entfalten können, die an Alkaloidwirkung erinnert. Für die Bedeutung dieser Substanzen im *Plasma* dagegen besteht bislang keine befriedigende Aufhellung, und eine Verschiebung des Fett-Lipoidgehalts wird mit der gleichgültigen Erklärung hingenommen, daß es sich hierbei um eine Störung der Oxydationsvorgänge handelte. Die Steigerung oder Verminderung des Fett-Lipoidgehalts im Plasma, die auf die geringsten Eingriffe hin erfolgt, ist bisher physiologisch eine dunkle Funktion. Die vorliegenden Untersuchungen setzen es sich zum Ziel, durch Analyse des kolloidchemischen Verhaltens diese Frage aufzuklären.

Es sei hier nur kurz auf folgendes Ergebnis hingewiesen:

Vom Standpunkte der Verbrennungsphysiologie, die Fette und Öle nur nach ihrem Kaloriengehalt beurteilte, erschien es gleichgültig, ob man hoch oder niedrig schmelzende Fette verfütterte.

Die vorliegenden Untersuchungen haben gezeigt, daß prinzipielle Unterschiede im kolloidchemischen Verhalten der hoch und niedrig schmelzenden Fette bestehen, und es erscheint nicht unwahrscheinlich, daß ein Teil der therapeutischen Wirkung der tierischen und pflanzlichen Öle auf der oben präzisierten kolloidchemischen Grundlage beruht.

C. Versuche über Katalaseschädigung durch Schwermetallsalze.

Die vorhergehenden Untersuchungen beschäftigen sich mit den Kolloidveränderungen gealterter Katalaselösung, und es entstand die Frage, ob auch andere Schädigungen in dem Sinne wirken, daß sie zu Kolloidveränderungen führen, die durch Fette und Lipoide reversibel sind.

[1]) *P. Waentig* und *O. Steche*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **79**, 446, 1912.
[2]) *A. Jarisch*, Arch. f. ges. Physiol. **186**, 299, 1921.

Senter[1]) hat gezeigt, daß Schwermetallsalze als starke Katalasegifte anzusehen sind, insbesondere wies er nach, daß das Sublimat auch in sehr hohen Verdünnungen eine Katalaseschädigung verursacht.

Zu 0,5 ccm frischer Blutlösung 1 : 1000 wurden 0,2 ccm einer Ölsäureemulsion 1 : 400 bzw. 0,2 ccm H_2O als Kontrolle zugesetzt. Darauf wurden 0,2 ccm einer 0,005 n Sublimatlösung zugefügt, 5 Minuten gewartet und mit 10 ccm n/200 H_2O_2 versetzt und die Katalasewirkung nach 5 Minuten abgebrochen. *Es ergaben sich Verbesserungen durch die Ölsäure von 10 bis 30 Proz.*

Nun liegen beim Sublimat besondere Verhältnisse vor insofern, als es sich hier um eine lipoidlösliche Substanz handelt. Der Grund der Verbesserung könnte also liegen in einer einfachen physikalischen Ablenkung der Substanz.

In der Tat konnte die Verbesserung bei nicht lipoidlöslichen Schwermetallsalzen nicht beobachtet werden. Weder beim Ferrosulfat, noch bei dem von *Bayliss*[2]) zur Kolloidfällung empfohlenen Ferrocyankalium wurden Verbesserungen der vergifteten Katalase durch vorhergehende Behandlung mit Fetten und Fettsäuren beobachtet.

Auch die Blausäureschädigung der Katalase, die seit *Bredig*[3]) vielseitiges Interesse gefunden hat, kann nicht verhindert werden durch Fett- und Lipoidemulsionen. Die Untersuchung ergibt also, daß weder bei Schwermetallsalzen, noch bei der Blausäureschädigung die reversible Kolloidveränderung auftritt, die beim Altern von Blut- und Serumlösungen zu beobachten ist.

D. Versuche mit Röntgenbestrahlung.

Schwarz und *Friedrich*[4]) haben nachgewiesen, daß die Katalase durch intensive Röntgenbestrahlung geschädigt wird. Diese Beobachtung bietet eine Parallele zu den Untersuchungen von *Fernau* und *Pauli*[5]), die feststellten, daß auch andere kolloide Eiweißsubstanzen durch durchdringende Radiumstrahlung gefällt werden. Beobachtungen in ähnlicher Richtung sind gemacht worden von *Waentig* und *Steche*[6]), *Mond*[7]).

Es lag also nahe, zu untersuchen, ob die durch Röntgenstrahlen gesetzte Katalaseschädigung durch Fett- und Lipoidemulsionen reversibel wäre. Zu diesem Zwecke wurden 10 ccm 1 : 20 verdünnter Blutlösung einer vierstündigen Röntgenbestrahlung ausgesetzt, nach der

---

[1]) *G. Senter*, a. a. O. — [2]) *Bayliss*, a. a. O. — [3]) *G. Bredig* und *Müller v. Berneck*, Zeitschr. f. physikal. Chem. **31**, 258, 1899. — [4]) *R. Schwarz* u. *W. Friedrich*, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **55**, H. 4, S. 1040. — [5]) *A. Fernau* u. *P. Pauli*, diese Zeitschr. **70**, 426, 1915. — [6]) *P. Waentig* u. *O. Steche*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **76**, 177, 1911. — [7]) *R. Mond*, Arch. f. ges. Physiol. **196**. 540, 1922.

Bestrahlung auf 1 : 1000 verdünnt und ebenso wie unbestrahlte Blutlösung, die während dieser Zeit bei gleicher Temperatur und gleicher Verdünnung gestanden hatte, mit und ohne Zusatz von Fettsäureemulsion 1:1000 ausgewertet.

Versuch Nr.	1	2	3	4	5
Verbesserung der unbestrahlten Blutprobe . . . . Proz.	3,7	2	0	—4	0
Verbesserung der bestrahlten Blutprobe . . . . Proz.	10	4	7	2	5

Wurde die Ölsäure vor der Röntgenbestrahlung der Blutlösung zugesetzt, so ergab sich gegen gleichzeitig bestrahlte ölsäurefreie Blutlösung eine Verbesserung von 10 bis 25 Proz. Durch Zusatz von Ölsäure wird also die Veränderung der kolloiden Struktur verhindert, die zu dem Abfall der Katalasewirkung durch Röntgenbestrahlung führt. Andererseits sind die eingetretenen Kolloidveränderungen wenigstens teilweise durch Ölsäureemulsionen reversibel. In geringem Maße wurde diese Erscheinung auch bei Triolein und Lecithin beobachtet. Diese Untersuchungen deuten darauf hin, *daß der Fett- und Lipoidgehalt des Blutes und Gewebes die Wirkung der Röntgenbestrahlung beeinflußt.*

E. Versuche über Lipämie.

Es wurde früher gezeigt[1]), daß die Fette und Lipoide im lipämischen Serum die Oberflächenzähigkeit der Serumlösung erheblich verändern können. Nach den bisherigen Feststellungen war zu erwarten, daß infolgedessen auch der Dispersitätszustand der in der Lösung befindlichen Kolloidkomplexe durch lipämisches Serum verändert würde, und daß so eine Verstärkung der Katalasewirkung gealterter Blutlösung zustande kommen könne. Wenn man Kaninchenblut in mit Paraffin ausgegossenen Zentrifugenröhrchen auffängt und zentrifugiert, so gelingt es, nach 24stündigem Stehenlassen Serum zu gewinnen, das keine Katalasewirkung zeigt. Das auf diese Weise gewonnene Serum eines lipämischen Kaninchens wurde mit der *Bang*schen Methode untersucht. Der Petrolätherextrakt ergab einen Gehalt an lipoiden Substanzen von 2,1 Proz. Bei Zusatz von 0,2 ccm dieser Serumprobe bzw. 0,2 ccm von Normalserum als Kontrolle zu gealterter katalasehaltiger Serumlösung ergaben sich bei Auswertung nach der Barcroftmethode folgende Verbesserungen:

Versuch Nr.	1	2	3	4	5	6
Verbesserung durch lipämisches Serum . . . . Proz.	2	3	0	7	0	3

[1]) *F. Eichholtz*, a. a. O.

Ebenso ergab sich aus einer Reihe von Versuchen, daß eine Verbesserung der Katalasewirkung von lipämischem Serum nach 24stündigem Stehen durch Zusatz von Fettsäureemulsion nicht erzielt werden konnte.

Es wird damit die Auffassung begründet, daß der Fett-Lipoidgehalt im Serum den Dispersitätszustand der Enzymeiweißkomplexe beeinflußt, und daß durch einen bestimmten Gehalt an diesen Substanzen das Zusammenballen der Kolloide beim Altern verhindert wird. Damit ist gleichzeitig ein neuer Hilfsmechanismus für eine Fermentwirkung aufgedeckt, der mit hoher Wahrscheinlichkeit auch für andere Fermente postuliert werden darf.

Wie schon aus den früheren Untersuchungen hervorgeht, sind die einzelnen lipoiden Bestandteile nicht gleichwertig. Insbesondere fehlen quantitative Bestimmungen derjenigen Substanz, die bei vergleichenden Untersuchungen die stärkste Kolloidwirkung besitzt, der Ölsäure. Von diesem Gesichtspunkte aus bedürfen die quantitativen Bestimmungen der lipoiden Serumsubstanzen einer Revision.

Es entstand die weitere Frage, ob vielleicht die Unterschiede, die im Fett-Lipoidbild der einzelnen Blutproben auftreten, schon Veränderungen des kolloiden Zustandes herbeizuführen vermögen, die mit obiger Methode zu erfassen sind. Diese Frage erscheint um so wichtiger, als der Fett-Lipoidgehalt schon im Normalen in weiten Grenzen variiert und über eine physiologische Bedeutung dieser Erscheinung kaum etwas bekannt ist.

Die Auswertung der Serumproben, die uns von der medizinischen Klinik Rostock freundlichst überlassen wurden, hatte mit dem Übelstande zu rechnen, daß sie selbst katalasehaltig sind. Aus Vorversuchen ergab sich, daß es gelingt, diese Katalase zu zerstören, wenn man durch Zusatz von Natriumcarbonat die Lösung alkalisch macht und längere Zeit bei höherer Temperatur hält.

Zu 10 ccm zehnfach verdünnter Serumlösung wurden 5 ccm 1 proz. Natriumcarbonat zugesetzt und das Gemisch eine Stunde bei 50° gehalten. Die Reaktion wurde zu p_H 9,7 bestimmt. Sie fällt also in ein Bereich der *Michaelis*schen Kurve, wo die Katalasewirkung in hohem Maße durch Veränderungen der Reaktion beeinflußt wird. Es wurde also bei jedem Versuch die Reaktion bestimmt.

Eine Temperatur von 45° genügte nicht zur Zerstörung der Katalase, ebenso wie bei obiger Reaktion in einem Falle nach 30 Minuten Wasserbad von 50° noch geringe Mengen von Katalase vorhanden waren.

Von den in dieser Weise katalasefrei gemachten verdünnten Seren verschiedenen Fettgehalts wurden 2 ccm in den Barcroftapparat eingeführt, mit 1 ccm zehnfach verdünntem katalasehaltigen gealterten

Serum versetzt und die Katalasewirkung, wie früher dargestellt, untersucht.

Der Fettgehalt von 12 Patientenseren schwankte zwischen 0,57 und 0,9 Proz. Ein Unterschied in der Katalasewirkung war nicht nachzuweisen. Immerhin muß darauf verwiesen werden, daß die Kolloidveränderungen, die beim Altern auftreten und sich mit obiger Methode nachweisen lassen, grob sind gegenüber denen, die möglicherweise unter pathologischen Verhältnissen im Organismus vor sich gehen.

F. Über den kolloiden Zustand der Katalase in den Erythrocyten.

Durch die Arbeiten von *Bloor*[1]), *Horiuchi*[2]), *Sakai*[3]), *Edelmann*[4]) ist festgestellt worden, daß nach starkem Aderlaß auffallende Veränderungen des Lipoidstoffwechsels auftreten, die sich in einer Erhöhung des Gehalts an Fetten, Fettsäuren, Lecithin und Cholesterin in Blut und Plasma äußert. Darüber hinaus haben *Horiuchi* und *Jastrowitz*[5]) nachgewiesen, daß an diesen Veränderungen auch die roten Blutkörperchen teilnehmen, die eine Steigerung des Phosphatidgehalts erkennen lassen.

Nun ist eine gewisse Einsicht in die Funktion der Lipoide in den Erythrocyten, vor allem durch *Brinkmann* und *v. Dam*[6]) vermittelt worden, die das Verhältnis Lecithin zu Cholesterin als eine wichtige zelluläre Konstante erkannten, von der Ionenpermeabilität, Wassergehalt, elektrische Isolation und Resistenz der roten Blutkörperchen abhängig ist. Ebenso ist durch *Jarisch*[7]) festgestellt worden, daß Seifen noch in Verdünnungen, die an die Wirkung der Alkaloide erinnern, den Blutkörperchen unter Umständen eine hochgradige Resistenz gegen Hypotonie verleihen. Es wird hier der Versuch gemacht, den Lipoiden eine zentrale Stellung im Mechanismus des Zellstoffwechsels anzuweisen, und auch die von *Höber*[8]), *Jodlbauer*[9]), *Haffner*[10]) und *Jarisch*[11]) begründete kolloidchemische Betrachtungsweise der Hämolyse endet aus in die Frage nach der Bedeutung der Zell-Lipoide.

In dieser Richtung bedeuten die Arbeiten von *Euler* einen großen Schritt vorwärts. *Euler* und *Borgenstam*[12]) ist es gelungen, die Katalasewirkung der Pferde-Erythrocyten durch Erhitzen auf 57° auf mehr als das Doppelte zu erhöhen. Sie nehmen an, daß die Katalase nicht im optimalen Dispersitätsgrade in den Zellen enthalten ist, und beziehen die erhöhte Katalasewirkung beim Erwärmen auf Vergrößerung der Dispersität. Diese Anschauung ist um so wichtiger, als durch die Arbeiten von *Jodlbauer*, *Haffner* und *Jarisch* bei Untersuchung der Wärmewirkung nahe Beziehungen

[1]) *W. R. Bloor*, Physiol. rev. **2**, 92, 1922.
[2]) *M. Horiuchi*, Journ. of biol. Chem. **44**, 363, 1920.
[3]) *S. Sakai*, diese Zeitschr. **62**, 387, 1914.
[4]) *F. Edelmann*, Zeitschr. f. ges. exper. Med. **30**, 221, 1922.
[5]) *H. Jastrowitz*, ebendaselbst 27, 276, 1922.
[6]) *R. Brinkmann* und *E. van Dam*, diese Zeitschr. **108**, 35, 61, 1920.
[7]) *A. Jarisch*, Arch. f. ges. Physiol. **186**, 299, 1921.
[8]) *R. Höber*, diese Zeitschr. **14**, 209, 1908.
[9]) *A. Jodlbauer* und *F. Haffner*, Arch. f. ges. Physiol. **179**, 121, 1919.
[10]) *F. Haffner*, ebendaselbst **179**, 144, 1919.
[11]) *A. Jarisch*, ebendaselbst **192**, 255, 1921.
[12]) *H. v. Euler* und *E. Borgenstam*, diese Zeitschr. **102**, 124, 1920.

zwischen dem Resistenzoptimum gegen Hämolyse und dem Stabilitätsoptimum der Blutkörperchenkolloide aufgedeckt wurden.

Es entstand also die Frage, ob auch die Lipoide, die nach *Jarisch* zu einer Erhöhung der Resistenz gegen Hypotonie führen, gleichzeitig eine Dispersitätsvergrößerung der Blutkörperchenkatalase bewirken, die nach dem Ergebnis der Versuche an gealterter Katalase wahrscheinlich war.

Die Versuche wurden im Anschluß an *Euler* und *Borgenstam* angestellt. Kaninchenblut wurde defibriniert, zentrifugiert und die roten Blutkörperchen viermal mit 1proz. Natriumchloridlösung gewaschen. Das ursprüngliche Blutvolumen wurde 1:500 verdünnt und je 10 ccm dieser Blutkörperchenemulsion in einer Reihe von Reagenzgläsern eingefüllt, mit 2 ccm 1proz. NaCl-Lösung bzw. 2 ccm Natriumoleat-Natriumchloridlösung in steigender Verdünnung versetzt.

Im Verlauf der Untersuchungen stellte sich heraus, daß ein derartiges Katalasesystem empfindlich ist gegen Änderungen der Reaktion. Die Röhrchen wurden infolgedessen mit gleichen Mengen von p-Nitrophenol bis zur leicht gelblichen Färbung versetzt und bis zur Entfärbung langsam CO_2 durchgeleitet. In anderen Fällen wurde in der Mischung kolorimetrisch nach *Michaelis* die H-Ionenreaktion bestimmt.

2 ccm der Reagenzglasemulsion wurden in Erlenmeyerkolben eingefüllt, mit 10 ccm n/100 H_2O_2-Lösung in 1proz. Natriumchloridlösung versetzt und nach einer bestimmten Zeit die Reaktion mit 5 ccm n/2 H_2SO_4 abgebrochen und der Restgehalt an H_2O_2 titrimetrisch bestimmt.

In einer Reihe von Versuchen wurde zunächst festgestellt, daß die von *Euler* für Pferde-Erythrocyten angegebene Erhöhung der Katalasewirkung durch Erwärmen bei Kaninchenerythrocyten nicht zu finden ist. *Euler* gibt eine optimale Wirkung bei 57° an. Daher wurden Parallelreihen mit und ohne Erwärmen auf 57° und anschließendem schnellen Abkühlen auf Zimmertemperatur angestellt.

Natriumoleatzusatz	p_H in der Mischung	Verbrauch an H_2O_2 ohne Erwärmen	Verbesserung Proz.	mit Erwärmen	Verbesserung Proz.
0	6,20	4,20	—	4,2	—
1 : 500	6,40	5,50	+ 31	3,0	— 28
1 : 1 000	6,30	5,50	+ 31	3,0	— 28
1 : 2 000	6,20	5,30	+ 26	3,0	— 28
1 : 4 000	6,20	4,70	+ 13	—	—
1 : 8 000	6,20	4,20	0	—	—
1 : 16 000	6,20	4,20	0	—	—

1. Die Natriumoleatverbesserung differierte in den einzelnen Versuchen sehr stark.

Versuch Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Verbesserung . . . Proz.	44	26	— 10	0	100	36	125	30	40	77	30	5

2. Ebenso waren starke Unterschiede in den Grenzkonzentrationen von Natriumoleat, die noch eine Verbesserung der Katalasewirkung herbeiführten. In Versuch Nr. 7 führte ein Natriumoleatzusatz von 2 ccm 1 : 32000, entsprechend einer Konzentration von 1 : 192000 in der Blutkörperchenemulsion und einer Konzentration von 1 : 1152000 nach Zusatz der H_2O_2-Lösung noch eine Verbesserung von 12 Proz. herbei. Damit werden die Verdünnungen erreicht, bei denen *Jarisch* noch eine Verbesserung der Resistenz gegen Hypotonie beobachtete.

3. Das im obigen Versuch beobachtete Verschwinden der Natriumoleatverbesserung durch Erwärmen auf 57° mit nachfolgendem Abkühlen auf Zimmertemperatur war nicht in allen Fällen nachzuweisen. Es ergaben sich folgende Veränderungen gegen den Leerversuch:

Versuch Nr.	1	2	3	4	5	6	8	10
Veränderung durch Na-Oleat 1:1000 . . . Proz.	— 5,5	— 50	— 14	— 12	+ 27	0	— 25	0

Aus den Versuchen ergibt sich, daß die Katalasewirkung gewaschener Kaninchenerythrocyten durch Zusatz von Natriumoleat verbessert wird. Wir erblicken hierin eine Parallele zu den Versuchen an gealterter Katalaselösung und sehen, in Übereinstimmung mit *Euler*, den Mechanismus dieser Verbesserung darin, daß durch Natriumoleat die Dispersität der Katalasekomplexe erhöht wird. Wir glauben, daß durch die vorliegenden Versuche die Anschauung begründet wird, daß die Fettsäuren den Zustand der Blutkörperchenkolloide regulieren, ebenso wie nach *Bang* durch Lecithin die intrazelluläre Diastasewirkung beeinflußt wird.

Zu sehr eigenartigen Betrachtungen muß die Tatsache Anlaß geben, daß die Natriumoleatverbesserung nach kurzem Erwärmen auf 57° mit nachfolgendem Abkühlen auf Zimmertemperatur verschwindet. Das ist um so merkwürdiger, als gleichzeitig das Katalasesystem ohne Natriumoleatzusatz nicht beeinflußt wird; es kann sich demnach nicht um eine Zerstörung der Katalase handeln. *Jarisch* hat gezeigt, daß bei mehrmaligem Erwärmen und Wiederabkühlen die Resistenz gegen Hypotonie immer wieder am gleichen Punkte liegt. Man könnte daraus den Schluß ziehen, daß die Blutkörperchenkolloide durch diese Prozedur nicht geschädigt werden. Durch die vorliegenden Versuche wird eine irreversible Reaktion des Katalasekomplexes beim Erwärmen auf 57° festgestellt. Da gleichzeitig keine Zerstörung der Katalase vorliegt, muß die Annahme gemacht werden, daß hierbei eine Fixierung des kolloiden Zustandes erfolgt, mit gleichzeitigem

Verlust der Fähigkeit der elastischen Kolloidveränderungen, die durch die Versuche von *Euler* und den Verfasser nachgewiesen wurden.

Eine kurze Betrachtung erfordert die oben erwähnte Empfindlichkeit des Katalasekomplexes gegen Änderungen der Reaktion. Wenn man statt einer Ölsäureemulsion eine Natriumcarbonatlösung 1 : 1000 nimmt, so erhält man eine weitaus stärkere Verbesserung. Auch diese Verbesserung ist durch Erwärmen auf 57⁰ mit nachfolgendem Abkühlen zu verhindern.

H_2O_2-Verbrauch durch	Ohne Erwärmen	Mit Erwärmen
Natriumcarbonatfreie Emulsion	1,30	1,30
Natriumcarbonatfreie Emulsion + Natriumcarbonat	7,0	0,20

Da die Natriumcarbonatverbesserung ebenso wie die durch Ölsäure durch Erwärmen verloren geht, so liegt die Annahme nahe, daß auch die Natriumcarbonatwirkung eine Wirkung auf die Dispersität des Katalasekomplexes darstellt.

Es ist damit in ganz genereller Weise ein überaus empfindlicher und wirkungsvoller Mechanismus aufgedeckt worden, der durch die geringsten Verschiebungen von Ölsäuregehalt, Reaktion und Temperatur weitgehend kontrolliert wird. Es ist damit ein neuer Blick eröffnet in die feineren Vorgänge der Zellumsetzungen und Oxydationen.

Das Leben der Zelle wird, mehr als sich bisher ahnen ließ, vom Spiele der Kolloide beherrscht.

Zusammenfassung.

1. Ölsäure, Triolein und Lecithin führen zu einer Verstärkung der Katalasewirkung gealterter Serumlösung.

2. Diese Verbesserung wird auf Vergrößerung der Dispersität der Katalasekomplexe zurückgeführt.

3. Die Katalaseschädigung durch Schwermetallsalze und Blausäure ist nicht reversibel durch Fette und Lipoide.

4. Die Katalaseschädigung durch Röntgenstrahlung wird durch Fette und Lipoide gehemmt und ist teilweise reversibel durch diese Substanzen.

5. Aderlaßlipämie beeinflußt den Dispersitätszustand der Enzymeiweißkomplexe.

6. Die Katalasewirkung gewaschener Kaninchenerythrocyten wird durch Zusatz von Natriumoleat verbessert.

Studien über intermediären Kohlenhydratumsatz und Insulin. Über die Zwischenzucker in Leber und Muskulatur. VI.

Von

Theodor Brugsch und Hans Horsters.

(Aus der II. medizinischen Klinik der Charité, Berlin.)

(Eingegangen am 23. Juli 1924.)

Bereits in unserer ersten Mitteilung[1]) haben wir gezeigt, daß unter der Wirkung des Insulins sich in Muskulatur und Leber der Versuchstiere Zucker aufspeichern, die nicht die Natur des Glykogens haben und die wir ohne jede Präjudikation als Zwischenzucker bezeichnet haben. Es ist die Aufgabe dieser Arbeit, eine Aussage über die Natur dieser Zwischenzucker zu machen. Wir wissen durch *Embden*, daß in der Muskulatur ein phosphoryliertes Kohlenhydrat existiert, dessen Natur mit der Hexosediphosphorsäure identisch ist (*Embden*), es lag also die Frage ganz besonders nahe, ob die unter Insulin aufgespeicherten Zwischenzucker *nur* den Charakter der Hexosediphosphorsäure tragen, oder ob auch noch höhere Kohlenhydratkomplexe zum Glykogen hin eine Rolle spielen, vor allem, ob auch die Leber die Bildung einer Hexosediphosphorsäure vollzieht. Ist unseres Wissens auch bisher die Hexosediphosphorsäure als Intermediärprodukt in der Leber noch nicht einwandfrei nachgewiesen, so war sie uns allerdings durch unsere Beobachtungen am intermediären Kohlenhydratumsatz der Leber schon sehr bald wahrscheinlich erschienen, auch spricht die Annahme des Glykogens als Kohlenhydrat-phosphorsäure-ester nach *Samec* sehr zugunsten der Vermutung, daß das Zwischenprodukt zwischen einfachem Monosaccharid bzw. Milchsäure und Glykogen eine Hexosephosphorsäure ist.

Methodik.

Die von uns eingeschlagene Methodik war folgende: Die Versuchstiere (Kaninchen) wurden, nachdem sie vorher teils normaler Ernährung, teils einer starken Kohlenhydratspeicherung (per os oder subkutan) gleichzeitig

---

[1]) *Theodor Brugsch*, *A. Benatt*, *Hans Horsters* und *R. Katz*, diese Zeitschr. **147**, H. 1/2.

mit der Insulinisierung unterworfen worden waren, durch Carotisschnitt entblutet. Die Organe — warm entnommen — wurden mit wenig Seesand fein zerrieben, mit physiologischer Kochsalzlösung oder Ringerlösung durchknetet, durch Mull filtriert und abgepreßt, der Saft sofort in Eiswasser gestellt und der Brei im Mull mit der Presse ausgepreßt. Die Preßsäfte wurden mit der Kochsalz- bzw. Ringerlösung auf ein rundes Volumen im Verhältnis zum Organgewicht aufgefüllt. Die Preßsäfte wurden nach Fällung durch Sublimat-Salzsäure (*Schenk*) oder durch Alkohol (1 : 5 bis 10) enteiweißt, wobei im letzteren Falle der Alkohol vorsichtig abgedampft wurde. Auf Eiweißfreiheit der Filtrate wurde durch Sulfosalicylsäure, Biuretreaktion bzw. Ninhydrinreaktion geachtet. Die Filtrate wurden sodann quantitativ auf Zucker untersucht durch Reduktion (*Folin-Wu*) und Polarisation (im 1-dcm-Rohr). Ferner wurde die anorganische Phosphorsäure (nach *Embden*) bestimmt und die Milchsäure nach dem Verfahren von *Hirsch* und *Kaufmann*. (Über Einzelheiten siehe unsere Mitteilungen I, III und V in dieser Zeitschr.) Ein aliquoter Teil des eiweißfreien Filtrats wurde alsdann einer 1½stündigen Hydrolyse in 1proz. HCl unterworfen und das neutralisierte Hydrolysat erneut auf Reduktionswert, Polarisationswert (im 1-dcm-Rohr), den Wert der anorganischen H_3PO_4 und der Milchsäure untersucht.

Versuche an normal genährten Tieren.

Versuch C. Protokoll Nr. 18. Journ. II.

Dunkelgraues Kaninchen von 2700 g. *Trächtiges* Muttertier, voll ernährt. Das Tier ist ausnehmend gut genährt, Zuckerwert des Blutes normal. Im Uterus sieben Föten.

Aus der Leber wurden, auf 100 g Organ berechnet, 200 ccm Organsaft + Kochsalzlösung gewonnen, desgleichen auf 100 g Muskulatur 200 ccm, so daß 2 ccm des Filtrats = 1 g Organ entsprechen.

Der Lebersaft dreht:

vor der Hydrolyse	+ 0,16°
nach „ „	+ 0,12°

Der Muskelsaft dreht:

vor der Hydrolyse	+ 0,06°
nach „ „	− 0,02°

Bei der Bestimmung des Zuckers nach *Folin-Wu*, wobei die erhaltenen Werte auf Glykose berechnet werden, ergibt die Zuckerbestimmung:

im Lebersaft:

vor der Hydrolyse	0,34 Proz.
nach „ „	0,37 „

im Muskelsaft:

vor der Hydrolyse	0,205 Proz.
nach „ „	0,164 „

Die Phosphorsäurebestimmung ergibt im Lebersaft:

vor der Hydrolyse	55,4 mg-Proz.	H_3PO_4
nach „ „	55,0 „	H_3PO_4

Die Phosphorsäurebestimmung ergibt im Muskelsaft:

vor der Hydrolyse	76,0 mg-Proz.	H_3PO_4
nach „ „	84.0 „	H_3PO_4

Die Milchsäurebestimmung ergibt im Lebersaft:
vor der Hydrolyse . . . . . 16 mg-Proz. Milchsäure
nach „ „ . . . . . 30 „ „
Die Milchsäurebestimmung ergibt im Muskel:
vor der Hydrolyse . . . . . 56 mg-Proz. Milchsäure
nach „ „ . . . . . 88 „ „
Glykogengehalt der Leber = 1,92 Proz.
„ „ Muskulatur = 0,52 „

Diskussion der Ergebnisse.

Berechnet man die Ergebnisse auf 100 g (2 ccm Saft = 1 g Organ entsprechend) so ergibt sich:

100 g Leber enthalten 1,92 g Glykogen

vor der Hydrolyse:

2 × 0,304 = 0,608 g Zucker, polarimetrisch auf Traubenzucker berechnet
2 × 0,34 = 0,68 g Zucker, nach dem Reduktionswert auf Traubenzucker berechnet
0,032 g Milchsäure
0,110 g anorganische H_3PO_4

nach der Hydrolyse:

2 × 0,228 = 0,456 g Zucker, polarimetrisch auf Traubenzucker berechnet
2 × 0,37 = 0,74 g Zucker, nach dem Reduktionswert auf Traubenzucker berechnet
0,110 g anorganische H_3PO_4
0,060 g Milchsäure

Da sich der anorganische H_3PO_4-Wert nicht geändert hat, so ist die Ausspaltung eines Zuckers aus einem phosphorylierten Kohlenhydrat durch Hydrolysierung in der Leber hier *nicht* anzunehmen; ferner reicht die Größe des Glykogengehaltes der Leber hin, um den Zuckergehalt des Lebersaftes ohne weiteres zu erklären. Daß der Zuckergehalt des Lebersaftes zum mindesten in der Hauptsache Traubenzucker ist, dafür spricht die leidliche Übereinstimmung von Polarisationswert und Reduktionswert; daß aber neben dem Traubenzucker noch andere Zucker hier eine Rolle spielen müssen, dafür spricht erstens, daß der Polarisationswert sich nicht völlig mit dem Reduktionswert deckt, zweitens, daß *nach der Hydrolysierung der Polarisationswert abnimmt und der Reduktionswert zunimmt.* Da ein phosphoryliertes Kohlenhydrat hier nicht in Frage kommen kann (der anorganische Phosphorsäurewert ändert sich nicht), so ist nur die Annahme möglich, daß wir hier in dem Leberzucker auch linksdrehende, veresterte Kohlenhydrate zu suchen haben, mit anderen Worten, daß hier höhere Zucker (Di- und Polysaccharide) zu suchen sind, die bei der Aufspaltung neben rechtsdrehendem Zucker auch linksdrehenden Zucker ergeben.

Bei der Berechnung der Werte auf *100 g Muskulatur* ergibt sich:
Glykogengehalt in 100 g Muskulatur = 0,52 g
vor der Hydrolyse:
2 × 0,114 = 0,228 g Zucker, polarimetrisch auf Traubenzucker berechnet,
2 × 0,2 = 0,4 g Zucker nach dem Reduktionswert auf Traubenzucker berechnet,
2 × 0,076 = 0,152 g anorganische H_3PO_4,
2 × 0,056 = 0,112 g Milchsäure,
nach der Hydrolyse:
2 × 0,02 = 0,04 g Zucker, polarimetrisch auf Fruchtzucker berechnet,
2 × 0,164 = 0,328 g Zucker, nach dem Reduktionswert auf Traubenzucker berechnet,
2 × 0,084 = 0,168 g anorganische H_3PO_4,
2 × 0,088 = 0,176 g Milchsäure.

Der Glykogengehalt der Muskulatur ist größer als dem Zuckergehalt des Muskelsaftes entspricht. Der Zucker des Muskelsaftes ist sicher nicht nur Glucose, da unaufgespalten der Reduktionswert erheblich größer ist als der Polarisationswert. Zum Teil — wenn auch zu einem sehr geringen — ist der Zucker ein phosphoryliertes Kohlenhydrat, da durch Hydrolysierung ein Zuwachs an 16 mg anorganischer Phosphorsäure entstanden ist. Zu einem — und zwar nicht unerheblichen — Teile muß der Zucker ein linksdrehendes Monosaccharid nach der Aufspaltung sein, da der Rechts-Polarisationswert vor der Aufspaltung in einen Links-Wert nach der Aufspaltung übergeht. Daß es sich um d-Fructose handelt, ist naheliegend. Die Werte, die sich für d-Fructose ergeben, selbst wenn nur der Wert der Polarisation auf d-Fructose berechnet wurde, sind größer, als einer Hexose-diphosphorsäure (berechnet auf den Zuwachs an anorganischer H_3PO_4 nach der Aufspaltung) entsprechen würde, so daß man sagen kann: der Muskelsaft enthält *Zwischenzucker*, die zu einem kleinen Teile Hexosephosphorsäure bzw. Hexosediphosphorsäure darstellen, zum größeren Teile aber Di- bzw. Polysaccharide darstellen, deren Aufspaltung linksdrehende Zucker ergibt. Da Glykogen bei der Aufspaltung rechtsdrehenden Zucker ergibt, *so ist es naheliegend anzunehmen, daß es sich um Zwischenzucker zwischen der Hexosediphosphorsäure (die als solche bereits von Embden im Muskelsafte nachgewiesen worden ist) und dem Glykogen handelt.*

Versuch E. Protokoll Nr. 29. Journ. II.

Normales Kaninchen. Gewicht 2050 g. Blutzucker 0,097 Proz. Reichlich ernährt (Grünfutter und Küchenabfälle). Getötet durch Verbluten aus den Carotiden.

Leber und Muskelsaft werden ausgepreßt, nachdem die Organe zuvor mit physiologischer Kochsalzlösung verrieben worden waren. 100 g Saft entsprechen 50 g Organ.

Lebersaft (auf 100 ccm).

Polarisationswert:

vor der Hydrolyse	+ 0,06°
nach „ „	— 0,03°

Reduktionswert (berechnet auf Glucose):

vor der Hydrolyse	0,06 Proz.
nach „ „	0,05 „

Anorganische H_3PO_4:

vor der Hydrolyse	Spuren
nach „ „	0,013 Proz.

Milchsäure:

vor der Hydrolyse	0,018 Proz.
nach „ „	0,012 „

Glykogengehalt der Leber = 0,95 Proz.

Muskelsaft (auf 100 ccm).

Polarisationswert:

vor der Hydrolyse	+ 0,05°
nach „ „	— 0,02°

Reduktionswert (berechnet auf Glucose):

vor der Hydrolyse	0,034 Proz.
nach „ „	0,028 „

Anorganische H_3PO_4:

vor der Hydrolyse	0,003 Proz.
nach „ „	0,020 „

Milchsäure:

vor der Hydrolyse	0,027 Proz.
nach „ „	0,090 „

Glykogengehalt der Muskulatur = 0,52 Proz.

Diskussion der Resultate.

Der Glykogengehalt der Leber und der Muskulatur ist weit größer als der Zuckergehalt der Säfte. Sowohl für Leber wie für die Muskulatur ist ein phosphoryliertes Kohlenhydrat anzunehmen, das durch Aufspalten mit Salzsäure in anorganische H_3PO_4 und Monosaccharid aufgespalten wird. Für 100 g Leber berechnet, finden wir 0,026 g anorganische H_3PO_4, die als Hexosediphosphorsäure rund 0,024 g Hexose binden kann und für 100 g Muskulatur 0,034 g, die als Hexosediphosphorsäure rund 0,031 g Hexose binden kann. Der Zucker in der Leber wie in der Muskulatur dreht vor der Hydrolyse rechts, aber der Reduktionswert und der Polarisationswert vor der Hydrolyse decken sich nicht.

Für 100 g Leber, auf Glucose berechnet:

vor der Hydrolyse:

polarimetrisch	0,218
Reduktionswert	0,12

nach der Hydrolyse:

polarimetrisch (auf Fructose berechnet)	0,05
Reduktionswert	0,10

Für 100 g Muskulatur, auf Glucose berechnet:
vor der Hydrolyse:
polarimetrisch 0,18
Reduktionswert 0,068
nach der Hydrolyse:
polarimetrisch (auf Fructose berechnet) . . 0,036
Reduktionswert 0,056

Nach der Hydrolyse ist allenthalben linksdrehender Zucker vorhanden. Daraus ist der Schluß zu ziehen erlaubt, daß sowohl in der Muskulatur wie in der Leber in diesem Falle Zwischenzucker vorhanden sind, die zum Teil phosphoryliert und mit aller Wahrscheinlichkeit an einen linksdrehenden Zucker gebunden sind. *Es ist damit auch in der Leber eine Hexosediphosphorsäure wie im Muskel als Zwischenzucker anzunehmen.* Neben diesem phosphorylierten Kohlenhydrat sind aber sowohl in der Leber wie in der Muskulatur noch aufspaltbare, nicht phosphorylierte Kohlenhydratkomplexe (Di-, Polysaccharide), die rechts drehen und nach der Aufspaltung linksdrehenden Zucker ergeben. *Diese Beobachtung gibt einen Hinweis dafür, daß der Aufbau zum Glykogen hier über die Hexosediphosphorsäure mit der d-Fructose und darüber hinaus über Polysaccharide führt, die aus linksdrehenden Zuckern zusammengesetzt sind.*

Versuche an insulinisierten Tieren.

Versuch D. Protokoll Nr. 27. Journ. II.

Graubraunes Kaninchen. Gewicht 1900 g.

Das gut genährte Tier (Grünfutter, Küchenabfälle) wird mit Insulin bei voller Ernährung behandelt

am 1. Tage: Blutzucker 0,109 Proz. 4 Einheiten Insulin intravenös,
,, 2. ,, 4 Einheiten Insulin intravenös,
,, 4. ,, 10 Einheiten Insulin intravenös,
,, 5. ,, 8h 30′ Blutzucker 0,118 Proz., 20 Einheiten Insulin intravenös,
8 40 intravenöse Injektion von 40 ccm 20proz. Glucoselösung,
9 30 Blutzucker 0,175 Proz.,
11 0 20 Einheiten Insulin intravenös,
12 0 Tod durch Entbluten aus den Carotiden.

Die Leber wie die Muskeln werden noch lebenswarm mit physiologischer Kochsalzlösung verrieben und ausgepreßt. Auf 50 g Organ werden 100 ccm Saft + Kochsalzlösung gewonnen.

Lebersaft (auf 100 ccm).
Polarisationswert:
vor der Hydrolyse . . . . + 0,02°
nach ,, ,, ... — 0,04°
Reduktionswert (berechnet auf Glucose):
vor der Hydrolyse . . . . 0,18°
nach ,, ,, ... 0,16°

Anorganische H_3PO_4:
vor der Hydrolyse . . . . 0,008 Proz.
nach „ „ . . . . 0,018 „
Milchsäure:
vor der Hydrolyse . . . . 0,022 Proz.
nach „ „ . . . . 0,018 „
Glykogengehalt der Leber = 7,52 Proz.

100 ccm *Muskelsaft* ergaben einen
Polarisationswert:
vor der Hydrolyse . . . . + 0,03°
nach „ „ . . . . – 0,03°
Reduktionswert (auf Glucose berechnet):
vor der Hydrolyse . . . . 0,19°
nach „ „ . . . . 0,38°
Anorganische H_3PO_4:
vor der Hydrolyse . . . . 0,015 Proz.
nach „ „ . . . . 0,021 „
Milchsäure:
vor der Hydrolyse . . . . 0,042 Proz.
nach „ „ . . . . 0,042 „
Glykogengehalt der Muskulatur = 0,7 Proz.

Diskussion der Resultate.

Leber und Muskulatur sind stark mit Glykogen angereichert. Gegenüber dem Glykogengehalt der Leber tritt der Zuckergehalt der Leber stark in den Hintergrund. Vergleicht man indessen den Zuckergehalt des Muskelsaftes (berechnet auf 100 g Muskulatur) nach der Hydrolyse mit dem Glykogengehalt der Muskulatur, so steht der Wert von 0,76 über dem auf Dextrose berechneten Wert von 0,7 des Glykogens; *das will besagen, daß unter dem Einfluß des Insulins eine starke Anreicherung der Muskulatur mit Zwischenzucker stattgefunden hat.*

Über die Natur der Zwischenzucker läßt sich folgendes sagen: Nach der Hydrolysierung sind in der Leber (für 100 g) 20 mg anorganische H_3PO_4, in der Muskulatur (für 100 g) 12 mg anorganische H_3PO_4 frei geworden. Es ist also für die Leber sowohl wie für die Muskulatur ein phosphoryliertes Kohlenhydrat (Hexosediphosphorsäure) anzunehmen. Daneben aber sind die nach der Aufspaltung auftretenden Zuckerwerte, sowohl in der Leber wie in der Muskulatur, berechnet für d-Fructose aus der Linksdrehung des Polarisationswertes größer, als etwa dem Anteil der d-Fructose am phosphorylierten Kohlenhydrat entspricht. Da der Polarisationswert vor der Hydrolyse in Leber wie Muskulatur ein Rechts-Wert ist, nach der Hydrolyse aber in beiden Organsäften ein Links-Wert, da ferner der Reduktionswert sowohl für Leber wie Muskulatur ein größerer ist, als dem Polarisationswert sowohl vor wie nach der Hydrolyse entspricht, so ist auch hier die Annahme zu machen, daß in den Zwischenzuckern Komplexe

nicht phosphorylierter Zucker zu suchen sind, die nach der Aufspaltung linksdrehende Zucker (neben rechtsdrehendem Zucker) ergaben. Das Insulin bewirkt also hinsichtlich der Natur der Zwischenzucker kein Novum, wohl aber besonders an der Muskulatur insofern eine Steigerung des physiologischen Geschehens, als die Menge der Zwischenzucker gestiegen ist. Diese letztere Erfahrung ist eine Bestätigung der in unserer ersten Mitteilung festgelegten Tatsache, daß unter dem Einfluß des Insulins die Menge der Zwischenzucker in Leber und Muskulatur zunimmt.

Versuch A. Protokoll Nr. 182. Journ. I.

Weißschwarzes Kaninchen von 3025 g, das 48 Stunden gehungert hat.

1. Hungertag:

9h30′	Blutzucker 0,090 Proz.,
10 0	60 ccm 20proz. Glucoselösung intravenös,
2 0	Blutzucker 0,198 Proz.

2. Hungertag:

8h30′	Blutzucker 0,09 Proz.,
8 45	60 ccm 20proz. Glucoselösung intravenös,
2 00	Blutzucker 0,240 Proz.

3. Hungertag:

8h30′	Blutzucker 0,115 Proz.,
8 45	60 ccm 20proz. Glucoselösung intravenös + 20 Einheiten Insulin,
8 50	Blutzucker mehr als 0,385 Proz.,
9 30	,, ,, ,, 0,385 ,,
10 20	20 Einheiten Insulin intravenös,
10 45	Blutzucker 0,170 Proz.,
11 05	,, 0,152 ,,
11 20	,, 0,105 ,,
11 45	20 Einheiten Insulin intravenös,
11 50	Blutzucker 0,104 Proz.,
12 15	,, 0,057 ,,
12 15	Tod durch Entbluten aus den Carotiden.

Die Methodik, die bei diesem Versuch durchgeführt wurde, weicht insofern ab von der eingangs unserer Arbeit beschriebenen Methodik, als hier die fein verriebenen Organe (Leber und Muskulatur) nicht ausgepreßt wurden, sondern lediglich mit einer Ringerlösung (ohne Glucosezusatz) aufgeschwemmt wurden, und zwar auf 10 g des Organs ad 100. Die Enteiweißung geschah durch absoluten Alkohol im Verhältnis von 1 der Organaufschwemmung zu 4 absoluten Alkohols.

Leber.

Polarisationswert für 2,5 g Organ zu 100 ccm Lösung im 1-dcm-Rohr:

vor der Hydrolyse . . . . + 0,06°
nach ,, ,, ... — 0,03°

Reduktionswert für 10 g Organ (berechnet auf Glucose):

vor der Hydrolyse . . . . 0,266 Proz.
nach ,, ,, ... 0,312 ,,

Anorganische H_3PO_4 in 10 g Organ:
vor der Hydrolyse . . . . 0,007 Proz.
nach „ „ . . . . 0,017 „
Glykogengehalt in *10 g* Leber = 0,038 g.

Muskulatur.

Polarisationswert für 2,5 g Organ zu 100 ccm Lösung im 1-dcm-Rohr:
vor der Hydrolyse . . . . + 0,08°
nach „ „ . . . . ± 0°

Reduktionswert für 10 g Organ (berechnet auf Glucose):
vor der Hydrolyse . . . . 0,154 Proz.
nach „ „ . . . . 0,144 „

Anorganische H_3PO_4 in 10 g Organ:
vor der Hydrolyse . . . . 0,013 Proz.
nach „ „ . . . . 0,012 „
Glykogen in 10 g Muskulatur = 0,160 g.

Diskussion der Resultate.

Der Glykogengehalt der Leber dieses insulinisierten Hungertieres ist so gering, daß die hohen Zuckerausschüttungswerte sich nur aus Zwischenzuckern ableiten können. Ähnliches dürfte auch — besonders im Einklang mit unseren früheren Erfahrungen (vgl. unsere erste Mitteilung) — für die Muskulatur gelten.

Phosphorylierte Kohlenhydrate sind für Leber und Muskulatur anzunehmen in Hinsicht auf die Zunahme der anorganischen H_3PO_4 nach Hydrolysierung. Der Polarisationswert des Zuckers ist für Leber und Muskulatur ein Rechtswert, der nach Aufspaltung der Zucker bei der Leber ein Linkswert wird und bei der Muskulatur auf den Nullwert geht. Es müssen also nach Aufspaltung der Zwischenzucker linksdrehende Zucker (neben rechtsdrehenden) aufgetreten sein, und zwar *über* den Wert einer d-Fructose in der Hexosediphosphorsäure. *Hinsichtlich des Mechanismus der Insulinwirkung am wichtigsten erscheint aus diesem Versuch die Beobachtung, daß bei dem mit Glucose und Insulin gespeicherten Hungertiere die Glucose nicht als Glykogen in der Leber wieder erscheint, sondern als Zwischenzucker, der aus einem Komplex linksdrehenden Zuckers besteht und zum Teil phosphoryliert ist.* Ähnlich liegen die Verhältnisse auch für die Muskulatur.

Versuch B. Protokoll Nr. 204. Journ. I.

Kaninchen, schwarz. Gewicht 2130 g. 48stündiger Hunger mit Insulinisierung als Vorbehandlung.

1. Tag.
10h30′ Blutzucker 0,085 Proz.
10 45 60 ccm 20proz. Glucoselösung intravenös.
10 50 4 Einheiten Insulin.
11 20 Blutzucker 0,110 Proz.

2. Tag (Hungertag).

8h 45′	Blutzucker 0,089 Proz.
10 20	80 ccm 20proz. Glucoselösung intravenös.
10 30	8 Einheiten Insulin.
2 15	Blutzucker 0,104 Proz.
2 30	60 ccm 20proz. Glucoselösung intravenös.

3. Tag (Hungertag).

9h 10′	Blutzucker 0,111 Proz.
10 00	60 ccm 20proz. Glucoselösung intravenös.
10 15	8 Einheiten Insulin.
12 00	60 ccm 20proz. Glucoselösung intravenös.
12 10	Blutzucker 0,224 Proz.

4. Tag (Hungertag).

9h 20′	Blutzucker 0,100 Proz.
9 40	40 ccm Glucoselösung (20proz.) intravenös.
10 05	20 Einheiten Insulin.
10 10	Blutzucker 0,125 Proz.
11 30	20 Einheiten Insulin.
12 20	Blutzucker 0,145 Proz.
1 00	Tier durch Entbluten aus den Carotiden getötet.

Die Methodik dieses Versuchs schließt sich eng an die in unserer ersten, dritten und fünften Mitteilung geübte Methode des Durchlüftungsversuchs der Organe in Ringerlösung an mit der Besonderheit, daß die freien Zucker in der Ringer-Organsuspension vor und nach Hydrolysierung in 1proz. HCl untersucht wurden.

Zur Untersuchung gelangten Leber, Muskulatur, Herz und Blut, wobei 10 g Organ (bzw. Blut) zu 100 mit Ringer unter Emulsionierung suspendiert wurden und bei 37° C im Wasserbade die Durchlüftung stattfand. Die Zuckerwerte (polarimetrisch und nach der Reduktion) wurden jeweils vor und nach der Hydrolysierung festgestellt, desgleichen die anorganische H_3PO_4, ferner Milchsäure und Fettsäuren. Enteiweißung geschah durch absoluten Alkohol im Verhältnis von 1 Ringersuspension zu 4 Alkohol. Ferner wurde das Glykogen in den Organen festgestellt.

Leber (10: 100 Ringer).

Polarisationswert für 100 der Lösung (= 10 g Organ):

vor der Luftdurchleitung:

ohne Hydrolyse . . . . . . + 0,2°
nach „ . . . . . . − 0,05°

nach der Luftdurchleitung:

ohne Hydrolyse . . . . . . ?
nach „ . . . . . . ± 0°

Reduktionswert für 100 der Lösung (= 10 g Organ):

vor der Luftdurchleitung:

ohne Hydrolyse . . . . . . 0,127 Proz.
nach „ . . . . . . 0,35 „

nach der Luftdurchleitung:
ohne Hydrolyse . . . . 0,036 Proz.
nach „ . . . . 0,050 „

Anorganische H_3PO:
vor der Luftdurchleitung:
ohne Hydrolyse . . . . 0,006 Proz.
nach „ . . . . 0,019 „
nach der Luftdurchleitung:
ohne Hydrolyse . . . . 0,007 Proz.
nach „ . . . . 0,018 „

Milchsäure:
vor der Luftdurchleitung . . . . . 9 mg
nach „ „ . . . . . 19 „

Buttersäure:
vor der Luftdurchleitung . . . . . 7 mg

Stearinsäure:
vor der Luftdurchleitung:
vor der Hydrolyse . . . . . 24,4 mg
nach „ „ . . . . . 200 „
Glykogengehalt in 10 g Leber = 0,052 g.

Muskulatur (10: 100 Ringer), berechnet für 10 g Muskulatur.

Polarisationswert:
vor der Luftdurchleitung:
vor Hydrolyse . . . . + 0,2°
nach „ . . . . — 0,1°
nach der Luftdurchleitung:
vor Hydrolyse . . . . + 0,15°
nach „ . . . . — 0,15°

Reduktionswert, berechnet auf Glucose:
vor der Luftdurchleitung:
vor Hydrolyse . . . . 0,1 Proz.
nach „ . . . . 0,05 „
nach der Luftdurchleitung:
vor Hydrolyse . . . . 0,15 Proz.
nach „ . . . . 0,15 „

Anorganische H_3PO_4:
vor der Luftdurchleitung:
ohne Hydrolyse . . . . 0,009 Proz.
nach „ . . . . 0,012 „
nach der Luftdurchleitung:
ohne Hydrolyse . . . . 0,017 Proz
nach „ . . . . 0,019 „

Milchsäure:
vor Luftdurchleitung:
ohne Hydrolyse . . . . 24 mg
nach „ . . . . 34 „

Buttersäure vor Luftdurchleitung:
ohne Hydrolyse . . . . 4 mg
nach „ . . . . 4 „

Stearinsäure vor Luftdurchleitung:
ohne Hydrolyse . . . . . . 22 mg
nach ,, ... 28 ,,
Glykogen in 10 g Muskulatur = 0,035 g.
Herzmuskel (10: 100 Ringer) berechnet auf 10 g.
Polarisationswert:
vor Luftdurchleitung:
ohne Hydrolyse . . . . . . + 0,1°
nach ,, ... – 0,05°
nach Luftdurchleitung:
ohne Hydrolyse . . . . . . + 0,25°
nach ,, ... – 0,1°
Reduktionswert, berechnet auf Glucose:
vor Luftdurchleitung:
ohne Hydrolyse . . . . . . 0,2°
nach ,, ... 0,01°
nach Luftdurchleitung:
ohne Hydrolyse . . . . . . 0,06°
nach ,, ... 0,01°
Anorganische H_3PO_4:
vor Luftdurchleitung:
ohne Hydrolyse . . . . . . 0,002 Proz.
nach ,, ... 0,004 ,,
nach Luftdurchleitung:
ohne Hydrolyse . . . . . . 0,002 Proz.
nach ,, ... 0,003 ,,
Blut (10: 100) berechnet auf 100 ccm Zucker.
Reduktionswert, berechnet auf Glucose:
vor Luftdurchleitung:
ohne Hydrolyse . . . . . . 0,072 Proz.
nach ,, ... 0,060 ,,
nach Luftdurchleitung:
ohne Hydrolyse . . . . . . 0,108 Proz.
nach ,, ... 0,060 ,,
Anorganische H_3PO_4:
vor Luftdurchleitung:
ohne Hydrolyse . . . . . . 0,002 Proz.
nach ,, ... 0,004 ,,
nach Luftdurchleitung:
ohne Hydrolyse . . . . . . 0,004 Proz.
nach ,, ... 0,004 ,,
Milchsäure:
vor Luftdurchleitung . . . . 0,040 Proz.
nach ,, ... 0,070 ,,

Diskussion der Resultate.

Der Glykogengehalt der Leber ist niedriger als der ausgeschüttete freie Zwischenzucker. Dieser besteht zum Teil aus einem phosphorylierten Kohlenhydrat, dreht vor der Spaltung rechts und enthält nach der Spaltung linksdrehenden Zucker. Bemerkenswert ist die Tatsache, daß nach der Durchlüftung der Zuckerwert im allgemeinen

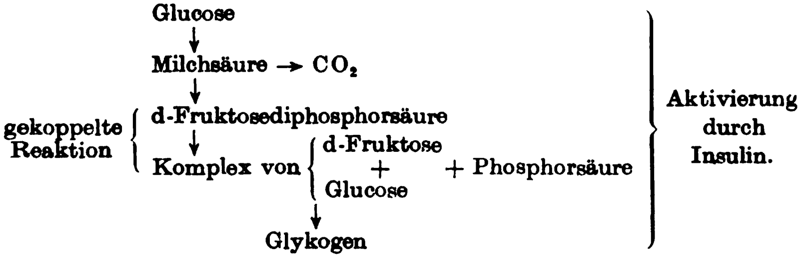
stark abnimmt, ob der linksdrehende Zucker stärker abnimmt, ist nicht feststellbar.

Ähnlich wie für die Leber liegen auch die Verhältnisse für die Muskulatur, deren freier Zwischenzucker, ausgeschüttet in die Ringerlösung, größer ist als der Glykogengehalt. Der Zwischenzucker dreht ungespalten rechts, gespalten links, ist zum Teil phosphoryliert. Unter der Durchlüftung ändert sich der Zuckerwert bei der Muskulatur kaum. Erwähnenswert ist nach der Aufschließung durch Salzsäure noch die Vermehrung der Stearinsäure, was wohl auf die Spaltung des Fettes zurückzuführen ist.

Schließlich seien noch die Blutuntersuchungen besprochen: Der Blutzuckerwert nimmt auf Durchlüftung etwas zu, nach der Hydrolyse wieder ab. Die allerdings geringe Zunahme des anorganischen Phosphorsäurewertes läßt an die Möglichkeit denken, daß auch im Blute der Zucker ein phosphoryliertes Kohlenhydrat ist. Die Versuche bedürfen einer erneuten Bearbeitung.

Zusammenfassung.

Wir hatten in unseren früheren Mitteilungen nachgewiesen, daß unter dem Einfluß des Insulins Leber und Muskulatur den Zucker (Glucose) durch einen oxydativ-synthetischen Prozeß, der über phosphoryliertes Kohlenhydrat geht, in Zwischenzucker zum Glykogen hin verwandelt. Diese besonders in der Muskulatur, aber auch in der Leber bei reichlicher Insulinisierung und Glucosespeicherung des Tieres auffindbaren Zwischenzucker bestehen zu einem kleinen Teile aus phosphoryliertem Kohlenhydrat (Hexosediphosphorsäure, wie sie physiologischerweise schon in der Muskulatur von *Embden* aufgefunden wurde), zu einem größeren Teile aus Polysacchariden, die nach Aufspaltung linksdrehende Zucker (neben rechtsdrehenden) ergeben. Der Vorgang der Bildung von Zwischenzuckern in Leber und Muskulatur weicht bei der Insulinisierung und Glucosespeicherung nur *quantitativ* von der Norm ab. Es ist also der Vorgang der Zuckersynthese aus der Glucose folgendermaßen zu denken:



Es wird unsere weitere Aufgabe sein, die Zucker nach ihrer Aufspaltung zu identifizieren.

Experimentelle Untersuchungen zur dynamischen Wirkung der Ionen auf Wachstumsvorgänge bei vitaminreicher Ernährung.

Von

Ryotaro Tsukamoto (Mieken, Japan).

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 25. Juli 1924.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Meine vorliegende Studie knüpft an die bekannten Beobachtungen von *Jacques Loeb* (1) und anderen über die parthenogenetische Entwicklung der Eier niederer Tiere durch die Einwirkung bestimmter Ionen, wie an die Beobachtungen aus dem hiesigen Laboratorium von *Yamasaki* (2) und *Hirabayashi* (3) über den fördernden Einfluß der Zellsalze auf die Entwicklung von Spermatozoen und Eiern bei weißen Mäusen an. Bei den Versuchen der beiden letzten Autoren war die Versuchsanordnung derart, daß die Tiere mit einem zellsalzarmen Nahrungsgemisch oder mit einem Nahrungsgemisch gefüttert wurden, dem *einzelne* Zellsalze weitgehend fehlten, das aber in jedem Falle Kochsalz und alle Vitaminfaktoren in so reicher Menge enthielt, daß Erscheinungen einer Hypovitaminose unmöglich auftreten konnten.

Bekanntlich sind alle Beobachtungen, die über die Wirkung einer salzfreien oder salzarmen Kost auf die Entwicklung von Tieren aus der Zeit vor der Entdeckung der Vitamine vorliegen, unbrauchbar, weil bei diesen Arbeiten der Vitaminfaktor nicht berücksichtigt wurde. Nun ist es gewiß technisch leicht, ein Nahrungsgemisch praktisch salz*frei und* vitamin*frei* herzustellen, man kann auch leicht ein Nahrungsgemisch anfertigen, das vitamin*frei und* salz*haltig* ist; aber ein Nahrungsgemisch zu machen, das salz*frei und* dabei vitamin*reich* ist, erscheint vorläufig fast als eine Unmöglichkeit. Denn die Vitamine sind zum großen Teile in Substanzgemischen enthalten, die gleichzeitig auch Salze beherbergen, und die mit der Entsalzung auch ihre Vitamine verlieren würden. Man muß sich daher damit begnügen, ein Nahrungsgemisch zu gewinnen, das ein Minimum an Salzen oder bestimmten

Salzen enthält, aber genügend Vitamine besitzt, und das außerdem kalorisch genügend ist und auch hinsichtlich der Zusammensetzung seiner organischen Bestandteile, Kohlehydrate, Fett und Eiweiß in richtigen Mengenverhältnissen und in seinem Eiweißbestand auch diejenigen Aminosäuregruppen aufweist, die für das Gedeihen des Organismus unentbehrlich sind.

Ein solches Nahrungsgemisch ist z. B. folgendes:

Casein	22 g
Polierter Reis	25 g
Butter	30 g
Zucker	10 g
Citronensaft	10 g

Bei diesem Nahrungsgemisch kann man, wenn man es zu einer, hinsichtlich des Salzgehaltes kompletten Nahrung machen will, z. B. folgendes Salzgemisch, das 50 Proz. NaCl und 50 Proz. Zellsalze enthält, in bestimmter Menge zufügen.

NaCl	100 g
K_2HPO_4	111 g
$Ca_3(PO_4)_2$	30 g
KCl	8 g
Magnes. citric.	20 g
Ferrum citric.	6 g
Calcium citric.	20 g
Jod-Jodkalilösung	5 g

Man kann aber auch die Zellsalze fortlassen und dem Nahrungsgemisch nur Kochsalz zufügen. Dann hat man eine Nahrung mit mehr oder weniger reichlichem Kochsalzgehalt, aber minimalem Zellsalzgehalt, nämlich mit denjenigen Spuren von Zellsalzen, die in den organischen Nahrungskomponenten des Gemisches, oder, wie ich es nennen will, der „*Grundnahrung*“ enthalten sind.

Die Fragestellung meiner vorliegenden Arbeit war folgende:

1. Wie wirkt die Armut an Salzen und insbesondere auch an Zellsalzen in der Nahrung auf die körperliche Entwicklung von heranwachsenden Tieren?
2. Wie wirkt die Armut an Zellsalzen in der Nahrung auf die Regeneration von bestimmten Geweben?

Beide Fragen konnten, zum Teil wenigstens, an denselben Gruppen von Versuchstieren untersucht werden, indem man junge Ratten der bestimmten Ernährung unterwarf und dabei die Körpergewichtskurve verfolgte, und indem man einige Wochen später, wenn der Körper ganz unter dem Eindruck der genannten Ernährungsweise stand, unter aseptischen Kautelen Haut- und Knochenwunden an dem Schädel setzte und daran die Heilungsprozesse nach Tötung einzelner Tiere in bestimmten Intervallen nach der Operation an mikroskopischen Präparaten verfolgte.

Bei der Fütterung der Ratten bekam nun jedes Tier, auf 100 g Körpergewicht berechnet, 6 g der Grundnahrung und außerdem die jeweilige Salzzulage. Da das Anfangsgewicht der meisten Tiere bei meinen Versuchen beträchtlich unter 100 g lag und sich auch im Verlauf der Versuche im Durchschnitt nicht wesentlich über 100 g erhob, so kann man bei Berechnung des in der Grundnahrung enthaltenen Mineralstoffgehaltes davon ausgehen, daß jedes Tier 6 g der Grundnahrung erhielt. Man hat dann sicherlich im Durchschnitt die Mineralzufuhr durch den in der Grundnahrung an sich enthaltenen Mineralgehalt eher zu hoch als zu niedrig angenommen.

Nun enthielten die in 6 g der täglichen Nahrung vorhandenen organischen Nahrungsbestandteile folgende Mengen an Mineralstoffen.

In den 6 g waren nämlich enthalten:

Casein	1,32 g
Polierter Reis	1,50 g
Butter	1,80 g
Zucker	0,60 g
Citronensaft	0,60 g

	CaO mg	MgO mg	FeO mg	P_2O_5 mg	Na_2O mg	K_2O mg	Cl mg	Gesamtasche mg
1,32 g Casein	—	—	—	—	—	—	—	47,52
1,50 g polierter Reis	0,16	0,57	0,02	2,75	2,85	1,05	0,01	6,50
0,60 g Citronensaft .	0,19	0,09	0,02	0,09	0,02	0,07	0,02	3,61
							Summe:	57,63

Wenn man der Berechnung den Gesamtaschengehalt der Nahrung zugrunde legt, dann findet man, daß mit der Grundnahrung etwa jedes Tier pro 100 g Körpergewicht 58 mg an Mineralstoffen erhielt, während durch die speziellen Salzzulagen in den verschiedenen Gruppen 100 bis 200 mg Mineralstoffe pro 100 g Körpergewicht gegeben wurden. Es war also die Mineralstoffzufuhr in Form der Salzzulagen zwei- bis vierfach größer als die in der Grundnahrung vorhandene mineralische Asche. Die Spannung zwischen beiden Werten war also eine beträchtliche, und es mußten sicher Wirkungen, die durch eine so stark vermehrte Salzzulage erzielbar waren, zur Anschauung kommen.

Ich will hier noch bemerken, daß die Nahrung mit destilliertem Wasser täglich zu einem Brei gekocht und in dieser Form den Tieren gereicht wurde. Es wurde darauf geachtet, daß die tägliche Nahrung quantitativ aufgefressen wurde. Daß ihr Kaloriengehalt genügend war, ergibt sich aus den beträchtlichen Gewichtszunahmen, die die jungen Tiere zeigten.

Ich hatte nun zwei Versuchsreihen von Ratten. Jede Reihe zerfiel in einzelne Gruppen.

Zu dem *ersten Versuche* verwandte ich 24 Ratten, die in zwei Gruppen, jede zu 12 Tieren, geteilt waren. Es waren alles fast ausgewachsene Tiere, deren durchschnittliches Körpergewicht zwischen 110 und 120 g lag. Die erste Gruppe erhielt pro 100 g Körpergewicht 6 g Grundnahrung und 0,18 g eines Zellsalz-Kochsalzgemisches, das aus 1 Teil Kochsalz + 2 Teilen Zellsalz bestand; die zweite Gruppe bekam pro 100 g Körpergewicht 6 g Grundnahrung und 0,18 g Kochsalz.

In allen Kurven ist das durchschnittliche Körpergewicht der Ratten jeder Gruppe eingetragen.

Tabelle I.

Erster Versuch. Erste Gruppe: Kochsalz 0,18 g pro die pro 100 g Körpergewicht.

Bemerkungen			Fütterung mit Abfällen		Beginn der Versuchsfütterung	Datum der Gewichtsbestimmungen						2. VI. Operation		Nach der Operation								
Ratten \ Datum			17. IV.	25. IV.	25. IV.	26.—27. IV.	1.—2. V.	8.—9. V.	15.—16. V.	22.—23. V.	29.—30. V.	2. VI.	Ab- oder Zunahme des Körpergewichts Proz.	4. VI.	8.—9. VI.	15.—16. VI.	22.—23. VI.	29.—30. VI.	6.—7. VII.	14.—15. VII.	20.—21. VII.	28.—29. VII.
10	Schwarz-weiß	♂	110	110		91,0	87,5	84,5	80,0	74,5	76,0	72,0	— 34,6	69,0	63,0							
11	Schwarz *R. R.*	♂	100	100		90,0	86,0	81,0	75,5	71,5	69,0	68,0	— 32,0	68,0	62,5 13. VI.							
5	Schwarz-weiß	♂	120	110		96,0	107,5	120,0	112,5	105,0	101,5	103,0	— 6,3	98,0	99,5	94,5						
6	Schwarz-weiß	♂	115	110		95,5	95,0	101,5	99,0	96,0	95,0	97,0	— 11,8	105,0	107,0	110,0	111,0					
9	Weiß	♂	115	105		93,5	93,5	110,0	106,5	107,0	107,5	110,0	+ 4,7	125,0	122,5	115,0	111,0	105,0				
1	Schwarz-weiß *K. R.*	♀	110	113,0		98,0	95,0	94,5	93,5	95,0	95,0	95,0	— 15,9	100,0	107,0	110,0	112,5	117,5	116,5			
8	Schwarz *B. R.*	♂	115,0	115		101,0	115,0	115,0	107,0	102,5	104,0	103,0	— 10,4	100,0	115,0	108,0	112,5	111,5	120,0	120,0		
4	Schwarz *H. G.*	♂	113,0	120,0		101,0	112,5	117,5	111,5	108,5	115,0	113,0	— 5,8	120,0	125,0	122,0	121,5	122,5	125,0	120,0	125,0	
Durchschnittl. Körpergewicht			112,3	110,3		95,8	99,0	102,9	98,3	95,3	95,4	95,1	— 13,7	98,1	100,3	110,0	113,5	114,1	113,8	120,0	125,0	

Bei der Fütterung der Ratten bekam nun jedes Tier, auf 100 g Körpergewicht berechnet, 6 g der Grundnahrung und außerdem die jeweilige Salzzulage. Da das Anfangsgewicht der meisten Tiere bei meinen Versuchen beträchtlich unter 100 g lag und sich auch im Verlauf der Versuche im Durchschnitt nicht wesentlich über 100 g erhob, so kann man bei Berechnung des in der Grundnahrung enthaltenen Mineralstoffgehaltes davon ausgehen, daß jedes Tier 6 g der Grundnahrung erhielt. Man hat dann sicherlich im Durchschnitt die Mineralzufuhr durch den in der Grundnahrung an sich enthaltenen Mineralgehalt eher zu hoch als zu niedrig angenommen.

Nun enthielten die in 6 g der täglichen Nahrung vorhandenen organischen Nahrungsbestandteile folgende Mengen an Mineralstoffen.

In den 6 g waren nämlich enthalten:

Casein	1,32 g
Polierter Reis	1,50 g
Butter	1,80 g
Zucker	0,60 g
Citronensaft	0,60 g

	CaO mg	MgO mg	FeO mg	P_2O_5 mg	Na_2O mg	K_2O mg	Cl mg	Gesamtasche mg
1,32 g Casein	—	—	—	—	—	—	—	47,52
1,50 g polierter Reis	0,16	0,57	0,02	2,75	2,85	1,05	0,01	6,50
0,60 g Citronensaft	0,19	0,09	0,02	0,09	0,02	0,07	0,02	3,61
							Summe:	57,63

Wenn man der Berechnung den Gesamtaschengehalt der Nahrung zugrunde legt, dann findet man, daß mit der Grundnahrung etwa jedes Tier pro 100 g Körpergewicht 58 mg an Mineralstoffen erhielt, während durch die speziellen Salzzulagen in den verschiedenen Gruppen 100 bis 200 mg Mineralstoffe pro 100 g Körpergewicht gegeben wurden. Es war also die Mineralstoffzufuhr in Form der Salzzulagen zwei- bis vierfach größer als die in der Grundnahrung vorhandene mineralische Asche. Die Spannung zwischen beiden Werten war also eine beträchtliche, und es mußten sicher Wirkungen, die durch eine so stark vermehrte Salzzulage erzielbar waren, zur Anschauung kommen.

Ich will hier noch bemerken, daß die Nahrung mit destilliertem Wasser täglich zu einem Brei gekocht und in dieser Form den Tieren gereicht wurde. Es wurde darauf geachtet, daß die tägliche Nahrung quantitativ aufgefressen wurde. Daß ihr Kaloriengehalt genügend war, ergibt sich aus den beträchtlichen Gewichtszunahmen, die die jungen Tiere zeigten.

Ich hatte nun zwei Versuchsreihen von Ratten. Jede Reihe zerfiel in einzelne Gruppen.

Zu dem *ersten Versuche* verwandte ich 24 Ratten, die in zwei Gruppen, jede zu 12 Tieren, geteilt waren. Es waren alles fast ausgewachsene Tiere, deren durchschnittliches Körpergewicht zwischen 110 und 120 g lag. Die erste Gruppe erhielt pro 100 g Körpergewicht 6 g Grundnahrung und 0,18 g eines Zellsalz-Kochsalzgemisches, das aus 1 Teil Kochsalz + 2 Teilen Zellsalz bestand; die zweite Gruppe bekam pro 100 g Körpergewicht 6 g Grundnahrung und 0,18 g Kochsalz.

In allen Kurven ist das durchschnittliche Körpergewicht der Ratten jeder Gruppe eingetragen.

Tabelle I.

Erster Versuch. Erste Gruppe: Kochsalz 0,18 g pro die pro 100 g Körpergewicht.

Bemerkungen	Fütterung mit Abfällen		Beginn der Versuchsfütterung	Datum der Gewichtsbestimmungen						2. VI. Operation		Nach der Operation								
Ratten / Datum	17. IV.	25. IV.	25. IV.	26.—27. IV.	1.—2. V.	8.—9. V.	15.—16. V.	22.—23. V.	29.—30. V.	2. VI.	Ab- oder Zunahme des Körpergewichts Proz.	4. VI.	8.—9. VI.	15.—16. VI.	22.—23. VI.	29.—30. VI.	6.—7. VII.	14.—15. VII.	20.—21. VII.	28.—29. VII.
10 Schwarzweiß ♂	110	110		91,0	87,5	84,5	80,0	74,5	76,0	72,0	— 34,6	69,0	63,0							
11 Schwarz *R. R.* ♂	100	100		90,0	86,0	81,0	75,5	71,5	69,0	68,0	— 32,0	68,0	62,5 13. VI.							
5 Schwarzweiß ♂	120	110		96,0	107,5	120,0	112,5	105,0	101,5	103,0	— 6,3	98,0	99,5	94,5						
6 Schwarzweiß ♂	115	110		95,5	95,0	101,5	99,0	96,0	95,0	97,0	— 11,8	105,0	107,0	110,0	111,0					
9 Weiß ♂	115	105		93,5	93,5	110,0	106,5	107,0	107,5	110,0	+ 4,7	125,0	122,5	115,0	111,0	105,0				
1 Schwarzweiß *K. R.* ♀	110	113,0		98,0	95,0	94,5	93,5	95,0	95,0	95,0	— 15,9	100,0	107,0	110,0	112,5	117,5	116,5			
8 Schwarz *B. R.* ♂	115,0	115		101,0	115,0	115,0	107,0	102,5	104,0	103,0	— 10,4	100,0	115,0	108,0	112,5	111,5	120,0	120,0		
4 Schwarz *H. G.* ♂	113,0	120,0		101,0	112,5	117,5	111,5	108,5	115,0	113,0	— 5,8	120,0	125,0	122,0	121,5	122,5	125,0	120,0	125,0	
Durchschnittl. Körpergewicht	112,3	110,3		95,8	99,0	102,9	98,3	95,3	95,4	95,1	— 13,7	98,1	100,3	110,0	113,5	114,1	113,8	120,0	125,0	

Tabelle II.

Erster Versuch. Zweite Gruppe: Zellsalz 0,18 g pro die pro 100 g Körpergewicht.

Bemerkungen	Fütterung mit Abfällen		Beginn der Versuchsfütterung	Datum der Gewichtsbestimmungen						2. VI. Operation		Nach der Operation								
Ratten \ Datum	17. IV.	25. IV.	25. IV.	26.–27. IV.	1.–2. V.	8.–9. V.	15.–16. V.	22.–23. V.	29.–30. V.	2. VI.	Ab- oder Zunahme d. Körpergewichts Proz.	4. VI.	8.–9. VI.	15.–16. VI.	22.–23. VI.	29.–30. VI.	6.–7. VII.	14.–15. VII.	20.–21. VII.	28.–29. VII.
5 Braun ♂	125,0	130,0		122,5	130,0	128,5	118,5	116,0	115,0	100,0	— 23,0	107,0	100,0							
3 Schwarz *R. R.* ♂	115,0	107,0		102,0	119,0	126,0	114,0	111,5	105,0	105,0	— 1,9	111,0	107,5	106,0						
9 Schwarz-weiß *H. R.* ♂	120,0	111,0		115,0	117,0	118,0	115,0	122,5	120,0	125,0	+ 12,6	113,0	110,0	107,0	107,5					
8 Schwarz-weiß *R. R.* ♂	105,0	110,0		101,0	116,0	126,5	117,5	112,5	120,0	125,0	+ 13,6	110,0	122,5	115,0	120,0	125,0				
7 Schwarz *H. R.* ♀	130,0	125,0		122,5	132,5	137,5	130,0	125,5	130,0	136,0	+ 8,0	125,0	124,0	123,0	127,0	128,0	136,0			
4 Schwarz ♂	120,0	110,0		102,5	118,5	120,0	125,0	116,0	112,5	115,0	+ 4,5	115,0	115,0	116,0	117,5	117,5	129,0	130,0		
2 Schwarz *B. V.* ♀	130,0	123,0		122,0	132,5	136,5	135,0	135,0	140,0	155,0	+ 17,8	155,0	144,5	140,0	140,0	141,5	143,0	145,0	145,0	
1 Schwarz ♀	125,0	125,0		121,0	135,0	135,0	137,5	146,0	153,0	150,0	+ 20,0	165,0	162,5	160,0	162,5	177,5	185,5	175,5	175,5	175,0
6 Schwarz *R. G.* ♂	115,0	105,0		105,0	116,0	124,0	117,0	117,5	122,5	145,0	+ 38,0	145,0	141,5	146,0	155,0	162,5	172,5	165,0	160,0	165,0
Durchschnittl. Körpergewicht	120,5	116,2		112,6	124,0	128,3	123,3	122,5	124,2	128,4	+ 10,5	127,3	125,3	126,6	127,1	142,0	143,2	165,5	160,1	170,0

Wie aus der Abb. 1 hervorgeht, nahmen die Zellsalz-Kochsalztiere nach einer leichten Gewichtssenkung in den ersten 4 Tagen des Versuchs mit gewissen Schwankungen dauernd leicht an Gewicht zu, während die Kochsalztiere im allgemeinen leicht an Gewicht abnahmen. Diese Tiere hatten an Stelle der 0,12 g Zellsalz 0,12 g Kochsalz, also im ganzen 0,18 g Kochsalz pro 100 g oder 1,8 g Kochsalz pro Kilogramm Körpergewicht erhalten.

Zu dem zweiten Versuche verwandte ich 24 Ratten und teilte sie in 4 Gruppen zu je 6 Tieren. Alle bekamen pro 100 g Körpergewicht 6 g Grundfutter, es erhielten als Salzzulage pro 100 g Körpergewicht die erste Gruppe 0,2 g Kochsalz, die zweite Gruppe 0,1 g Kochsalz + 0,1 g Zellsalz, die dritte Gruppe 0,1 g Kochsalz, die vierte Gruppe bekam keine Salzzulage.

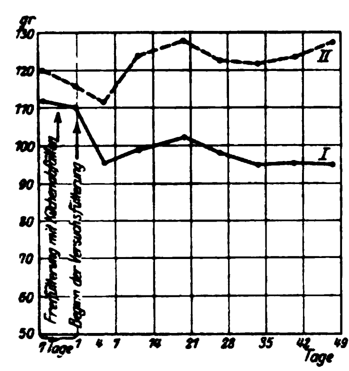


Abb. 1. Erster Versuch.

I = 0,18 g Kochsalz pro 100 g Körpergewicht.
II = 0,18 g Zellsalz-Kochsalzgemisch (2:1) pro 100 g Körpergewicht.

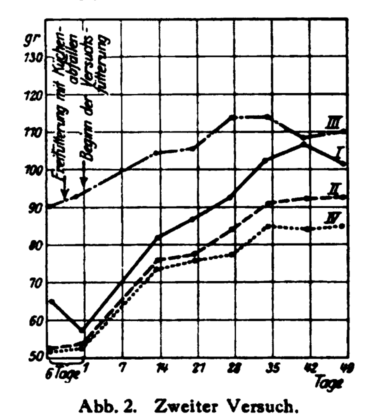


Abb. 2. Zweiter Versuch.

I = 0,2 g Kochsalz pro 100 g Körpergewicht.
II = 0,2 g Zellsalz-Kochsalzgemisch (2 : 1) pro 100 g Körpergewicht.
III = 0,1 g Kochsalz pro 100 g Körpergewicht.
IV = Ohne Salzzulage.

Bei diesem zweiten Versuche waren die Tiere der dritten Gruppe ältere Tiere, nicht ganz so alt wie die Tiere des ersten Versuchs, aber doch wesentlich älter als die übrigen Tiere des zweiten Versuchs. Sie nahmen in den ersten 4 Wochen an Körpergewicht zu, dann aber blieb es stehen und fiel schließlich wieder etwas. Diese Tiere hatten eine Zulage von 0,1 g NaCl zur Grundnahrung erhalten; sie entsprachen im allgemeinen den Kochsalztieren des ersten Versuchs, nur hatten diese fast das Doppelte (0,18 g) von der Kochsalzmenge erhalten, die jene Tiere des zweiten Versuchs bekommen hatten.

Wenn man nun die Gewichtskurven der Kochsalztiere des ersten Versuchs (0,18 g NaCl) und dieser Tiere mit 0,1 g NaCl-Zulage des zweiten Versuchs vergleicht, so findet man, daß durch die größere NaCl-Zulage von 0,08 g NaCl wohl an sich schon eine Schädigung im Wachstum erzeugt wurde, während bei den Tieren mit nur 0,1 g eine solche Schädigung zunächst wenigstens nicht aufgetreten war. Wenn man die bei diesen Versuchen verwandten NaCl-Mengen auf das Kilogramm Körpergewicht berechnet, dann findet man, daß die Tiere des ersten Versuchs mit der Abnahme des Körpergewichts 1,8 g pro Kilogramm, die Tiere des zweiten Versuchs mit der anfänglichen Zunahme des Körpergewichts 1 g NaCl pro Kilogramm erhalten hatten.

Tabelle III. Zweiter Versuch. Erste Gruppe: Kochsalz 0,2 g pro die pro 100 g Körpergewicht.

Bemerkungen	Fütterung mit Abfällen		Beginn der Versuchsfütterung	Datum der Gewichtsbestimmungen						2. X. Operation	Nach der Operation				
Ratten / Datum	7. VIII.	14. VIII.	14. VIII.	26.–27. VIII.	3.–4. IX.	10.–11. IX.	17.–18. IX.	24.–25. IX.	30. IX.–1. X.	Ab- oder Zunahme d. Körpergewichts Proz.	7.–8. X.	14.–15. X.	21.–22. X.	28.–29. X.	4.–5. XI.
1 Weiß, *R. R.* . . . ♂	80,0	74,0		93,0	96,0	100,0	115,0	115,0	117,0	+ 58,0	130,0				
2 „ *R. H. R.* . . ♂	62,0	49,0		83,0	92,0	100,0	110,0	115,0	110,0	+ 124	120,0	125,0			
3 „ *R. R.* . . . ♂	60,0	57,0		75,0	84,0	85,0	95,0	105,0	95,0	+ 66,6	95,0	110,0	105,0		
4 „ *H. R.* . . . ♂	60,0	49,0		80,0	78,0	85,0	95,0	98,0	85,0	+ 73,4	90,0	95,0	95,0	99,0	
Durchschnittl. Körpergewicht . .	65,0	57,2		80,2	87,5	92,5	103,8	107,5	101,5	+ 77,7	108,7	106,6	100,0	99,0	

Tabelle IV. Zweiter Versuch. Zweite Gruppe: Zellsalz—Kochsalz 0,2 g pro die pro 100 g Körpergewicht.

Bemerkungen	Fütterung mit Abfällen		Beginn der Versuchsfütterung	Datum der Gewichtsbestimmungen						2. X. Operation	Nach der Operation				
Ratten / Datum	7. VIII.	14. VIII.	14. VIII.	26.–27. VIII.	3.–4. IX.	10.–11. IX.	17.–18. IX.	24.–25. IX.	30. IX.–1. X.	Ab- oder Zunahme d. Körpergewichts Proz.	7.–8. X.	14.–15. X.	21.–22. X.	28.–29. X.	4.–5. XI.
1 Weiß, *H. R.* . . . ♂	56,0	55,0		105,0	102,0	110,0	125,0	127,0	125,0	+ 124,0	135,0				
2 „ *K. R.* . . . ♂	51,0	55,0		80,0	82,0	86,0	88,0	87,0	88,0	+ 60,0	90,0	90,0			
3 „ . . . . ♂	55,0	58,0		78,0	74,0	90,0	110,0	105,0	105,0	+ 81,0	102,0	105,0	94,0		
4 „ *H. R. R.* . . ♂	51,0	55,0		70,0	72,0	76,0	75,0	80,0	80,8	+ 46,9	87,0	90,0	91,0	105,0	
5 „ *R. R.* . . . ♂	48,0	45,0		49,0	54,0	62,0	65,0	64,0	65,0	+ 44,0	73,0	70,0	70,0	78,0	75,0
Durchschnittl. Körpergewicht . .	52,2	53,6		76,4	76,8	84,8	91,0	92,6	92,8	+ 73,3	97,4	88,5	85,0	91,5	75,0

Tabelle V. Zweiter Versuch. Dritte Gruppe: Kochsalz 0,1 g pro die pro 100 g Körpergewicht.

Bemerkungen	Fütterung mit Abfällen		Beginn der Versuchsfütterung	Datum der Gewichtsbestimmungen						2. X. Operation	Nach der Operation				
Ratten / Datum	7. VIII.	14. VIII.	14. VIII.	26.—27. VIII.	3.—4. IX.	10.—11. IX.	17.—18. IX.	24.—25. IX.	30. IX.—1. X.	Ab- oder Zunahme d. Körpergewichts Proz.	7.—8. X.	14.—15. X.	21.—22. X.	28.—29. X.	4.—5. XI.
1 Weiß, *K. R.* . . . ♀	100,0	115,0		125,0	130,0	140,0	146,0	140,0	140,0	+ 21,7	163,0				
2 „ . . . . ♀	100,0	115,0		125,0	120,0	130,0	130,0	120,0	120,0	+ 4,1	125,0	125,0			
3 „ *H. R.* . . . ♀	70,0	75,0		83,0	84,0	90,0	95,0	90,0	95,0	+ 26,6	107,0	105,0	98,0		
4 „ *R. R.*	90,0	70,0		85,0	90,0	96,0	85,0	85,0	85,0	+ 21,4	89,0	100,0	99,0	105,0	
Durchschnittl. Körpergewicht .	90,0	93,7		104,5	106,0	114,0	114,0	108,7	110,0	+ 17,3	121,0	110,0	98,5	105,0	

Tabelle VI. Zweiter Versuch. Vierte Gruppe: Ohne Salz.

Bemerkungen	Fütterung mit Abfällen		Beginn der Versuchsfütterung	Datum der Gewichtsbestimmungen						2. X. Operation	Nach der Operation				
Ratten / Datum	7. VIII.	14. VIII.	14. VIII.	26.—27. VIII.	3.—4. IX.	10.—11. IX.	17.—18. IX.	24.—25. IX.	30. IX.—1. X.	Ab- oder Zunahme d. Körpergewichts Proz.	7.—8. X.	14.—15. X.	21.—22. X.	28.—29. X.	4.—5. XI.
1 Weiß, *K. R.* . . . ♂	60,0	60,0		94,0	95,0	100,0	105,0	110,0	113,0	+ 88,3	110,0				
2 „ *S. R. R.* . . ♂	53,0	54,0		70,0	67,0	66,0	79,0	79,0	85,0	+ 57,4	87,0	98,0			
3 „ *B. R.* . . . ♂	45,0	45,0		67,0	70,0	66,0	85,0	80,0	85,0	+ 88,8	85,0	95,0	100,0		
4 „ . . . . ♂	52,0	53,0		69,0	72,0	80,0	90,0	85,0	85,0	+ 60,3	90,0	90,5	95,0	100,0	
5 „ *H. R.* . . . . ♂	57,0	54,0		75,0	78,0	75,0	80,0	75,0	75,0	+ 38,8	85,0	80,0	80,0	89,0	94,0
6 „ *L. R.* . . . . ♀	50,0	55,0		74,0	76,0	75,0	85,0	75,0	75,0	+ 36,3	75,0	75,0	84,0	92,0	96,0
Durchschnittl. Körpergewicht .	52,8	53,3		74,8	76,3	77,0	85,0	84,0	85,4	+ 60,2	88,6	87,3	89,5	93,3	95,0

Nun ist bekannt, daß schon Kochsalzgaben von 0,6 bis 1,1 g pro Kilogramm zu einer Erhöhung des N-Umsatzes führen [Literatur siehe bei *Händel* (4)]; erst recht wird das der Fall sein bei noch größeren Gaben, also bei 1,8 g pro Kilogramm. Darum werden auch die mit 1,8 g NaCl pro Kilogramm gefütterten Tiere schlechter gestellt sein und eher an Gewicht abnehmen als die Tiere mit 1,0 g NaCl pro Kilogramm. Aber auch diese letzteren wurden schließlich bei länger dauerndem Versuche in ihrem Wachstum geschädigt, wie aus der Gewichtskurve hervorgeht.

Mit anderen Worten: *Die zellsalzarm ernährten Tiere werden, abgesehen von der Wirkung der Zellsalzarmut, wahrscheinlich noch einer besonderen Schädigung ausgesetzt, wenn sie gleichzeitig mit großen, den N-Umsatz steigernden NaCl-Mengen ernährt werden.*

Die Zellsalztiere der ersten Gruppe des ersten Versuchs erhielten aber nur 0,6 g NaCl pro Kilogramm, also eine Dosis, die an der unteren Grenze der den N-Umsatz erhöhenden Kochsalzdosis liegt. Diese Tiere waren durch Kochsalz also wahrscheinlich in ihrem Wachstum praktisch nicht geschädigt. Sie erhielten dazu noch die Zellsalze und nahmen so stärker an Gewicht zu.

Man sieht also, daß eine Wachstumsschädigung nicht nur auftreten kann durch den Mangel an Zellsalzen, sondern auch durch einen Überschuß an Kochsalz in der Nahrung. Das lehrt eine Betrachtung der Gewichtskurve der beiden Gruppen des ersten Versuchs und der dritten Gruppe des zweiten Versuchs.

Betrachten wir nun die Gewichtskurven der ersten, zweiten und vierten Gruppe des zweiten Versuchs bei den sehr jugendlichen Tieren, die hier verwandt wurden. Das Auffallendste ist, daß die überhaupt salzarm ernährten Tiere der vierten Gruppe doch noch verhältnismäßig gut an Gewicht zunahmen.

Daraus geht hervor, daß für das Wachstum des jugendlichen Körpers äußerst minimale Spuren von Salz offenbar genügen, und daß wahrscheinlich alle jene älteren Beobachtungen über die intensiven Wachstumsstörungen bei salzfreier Kost in erster Linie auf den gleichzeitigen Vitaminmangel der Kost bezogen werden müssen.

Allerdings entwickelten sich diese salzarmen Tiere etwas schlechter als die Tiere, die Salz erhielten, sei es Kochsalz allein (erste Gruppe) oder Kochsalz + Zellsalz (zweite Gruppe). Einen gewissen schädigenden Einfluß hat also die Salzarmut des Körpers auf das Wachstum doch, aber dieser Einfluß ist ganz sicher früher beträchtlich überschätzt worden, wenn auch bei wirklicher Salzfreiheit der Nahrung die Wachstumsschädigung größer sein dürfte als es bei meinen Versuchen der Fall war. Während nun die Tiere der zweiten und vierten Gruppe des zweiten Versuchs genau dasselbe durchschnittliche Anfangsgewicht hatten als sie in die Beobachtung genommen wurden, waren die Tiere der ersten Gruppe um etwa 13 g schwerer, also ältere Tiere. Im übrigen waren die Tiere der ersten, zweiten und vierten Gruppe fast durchgängig männliche Tiere. Die prozentige Gewichtszunahme auf das Anfangsgewicht bei Beginn der Beobachtung berechnet betrug bei der vierten Gruppe (salzarm) 61,6 Proz., bei der ersten Gruppe (2 g NaCl pro Kilogramm) trotz der bei dieser großen Kochsalzgabe anzunehmenden Schädigung immer noch 56 Proz., bei der zweiten Gruppe (0,66 g NaCl + 1,32 g Zellsalz pro Kilogramm) 81 Proz. Berechnet man aber die prozentige Gewichtszunahme auf das Anfangsgewicht bei Beginn der *dosierten* Fütterung mit der Grundnahrung usw., dann findet man bei der vierten

Gruppe 60,4 Proz., bei der ersten Gruppe 77,7 Proz. und bei der zweiten Gruppe 71,8 Proz.

Die salzarme vierte Gruppe hat also immer die geringste Körpergewichtszunahme aufzuweisen; die erste Gruppe mit der großen Kochsalzgabe schneidet im Vergleich zur zweiten Gruppe mit der kleinen Kochsalzgabe + Zellsalzgabe nur dann schlechter ab, wenn man das Körpergewicht als Ausgangspunkt nimmt, das die Tiere hatten, als sie überhaupt zur Beobachtung kamen. Denn in der einwöchigen Vorperiode, in der die Tiere mit Küchenabfällen gefüttert wurden, hatten die Tiere der ersten Gruppe im Gegensatz zu allen anderen Tieren aus unbekannten Gründen 10 g an Gewicht abgenommen.

Es läßt sich also nicht sicher entscheiden, wie sich das Körpergewicht der Tiere der ersten Gruppe schließlich verhalten haben würde, wenn die Tiere nicht an Gewicht in der Vorperiode abgenommen hätten.

Jedenfalls geht doch so viel aus den Gewichtskurven dieses zweiten Versuchs hervor, daß bei jungen, in starkem Wachstum befindlichen Tieren selbst durch eine Kochsalzgabe, die bei älteren Tieren an sich wahrscheinlich schon gewisse Störungen in der Körpergewichtszunahme bewirkt, keine intensivere Wachstumshemmung erzeugt wird, soweit das Wachstum im Gewicht des ganzen Körpers zum Ausdruck kommt.

Aus allen meinen Beobachtungen über das Verhalten des Körpergewichts bei den Ratten der beiden Versuche mit ihren Gruppen kann man folgende Schlüsse ziehen:

1. Bei sehr jungen Tieren bewirkt eine allgemeine, hochgradige Salzarmut der Nahrung bei genügendem Vitamingehalt nur eine geringfügige Hemmung in der Körpergewichtszunahme.

2. Bei sehr jungen Tieren wird auch bei Zellsalzarmut der Nahrung, aber hohem Kochsalzgehalt derselben (2 g pro Kilogramm) keine stärkere Hemmung in der Körpergewichtszunahme hervorgerufen.

3. Bei etwas älteren Tieren bewirkt Zellsalzarmut der Nahrung mit höherem Kochsalzgehalt (1,8 g pro Kilogramm) eine Senkung des Körpergewichts, mit einem geringeren Kochsalzgehalt (1,0 g pro Kilogramm) eine Senkung nach anfänglicher Steigerung.

4. Es scheint die Gestaltung des Körpergewichts auch von dem Mischungsverhältnis der Salze in der Nahrung weitgehend abhängig zu sein, unter anderem auch von dem gegenseitigen Verhältnis zwischen Kochsalz und Zellsalzen.

Nachdem nun die Tiere 6 bzw. 7 Wochen unter der dosierten Ernährung mit der Grundnahrung und den jeweiligen Salzzulagen gestanden hatten, wurde ihnen unter aseptischen Kautelen links die Kopfhaut in sagittaler Richtung gespalten, die Haut wurde von hier aus von der rechten Hälfte des Schädeldaches losgelöst, und es wurde mit einer kleinen Säge das rechte Schädeldach in sagittaler Richtung und in der Ausdehnung von etwa 0,5 cm durchgesägt, ohne die Dura zu verletzen, darauf wurde die Hautwunde durch fortlaufende Naht mit feiner Seide geschlossen und es wurde ein Kollodiumverband

angelegt. Alle Hautwunden heilten per primam. Nunmehr tötete ich jede Woche nach der Operation je ein Tier jeder Gruppe, fertigte von der Stelle des Hautschnittes und des Knochenschnittes Präparate der Haut und der Knochen an. So erhielt ich Präparate vom 6., 12., 18., 24. und 30. Tage nach Anlegung der Wunden. Es wurde immer ein Präparat mit Hämalauneosin, eins nach *van Gieson*, eins nach *Weigert* und eins nach *Giemsa* gefärbt. Das Ergebnis dieser Untersuchung war folgendes:

1. Knochen und Hautwunden heilen bei allen Tieren allmählich.
2. Die Knochenneubildung trat bei den überhaupt salzarm ernährten Tieren (Versuch 2, vierte Gruppe) wohl mit der deutlichsten Verzögerung auf. Dann folgten in gewissem Abstande alle übrigen Tiere. Hier waren die Unterschiede sehr gering zwischen den einzelnen Gruppen. Manchmal schien die Knochenneubildung bei den zellsalzarm, aber mit Kochsalz ernährten Tieren, bald bei den mit Zellsalz-Kochsalz ernährten Tieren etwas besser zu sein. Wenn Unterschiede vorhanden waren, so waren sie nur am Ende der ersten Woche erkennbar. Später glich sich alles aus. An der Heilung der Hautwunden war überhaupt kein Unterschied ersichtlich.

Es lehren diese Beobachtungen, daß allgemeine Salzarmut der Nahrung die Gewebsregeneration von an sich schwerer heilenden Geweben, wie z. B. an dem Knochen, in leichtem Maße verzögert, daß in ähnlichem Sinne auch andere Störungen der Ionenmischung im Körper wirken können, daß aber wenigstens bei Ratten, die an sich überhaupt eine sehr große Heilungstendenz bei Wunden zeigen, diese Störungen äußerst geringfügig sind.

Literatur.

1) *Hamburger*, Osmotischer Druck und Ionenlehre **2** (hier findet sich die Literaturzusammenstellung). — 2) *Yamasaki*, Virchows Arch. **245**, 1923. — 3) *Hirabayashi*, ebendaselbst **250**, 1924. — 4) *Händel*, diese Zeitschr. **146**, 1924.

Zur Frage nach den Pankreasnucleinsäuren.

Von

Erik Jorpes.

(Aus der physiologisch-chemischen Abteilung des Karolinischen Instituts zu Stockholm.)

(Eingegangen am 29. Juli 1924.)

Nachdem die Guanylsäure durch die Arbeiten von *O. Hammarsten, Bang* und *Steudel* als eine einfache Pentosenucleinsäure identifiziert war, wurde diese Säure in mehreren Organen gefunden und als ein gewöhnlicher Teil der Zellkerne anerkannt. Während sie im Pflanzenreiche in Hefe- und Triticonucleinsäure in lockerer Verbindung mit anderen Pentosenucleotiden vorkommt, ist man bis zu den letzten Jahren wohl im allgemeinen der Meinung gewesen, daß sie in den tierischen Organen als eine selbständige Nucleinsäure vorkommt. Dieser Unterschied ist nunmehr weggefallen, seitdem *R. Feulgen*[1]) und *E. Hammarsten*[2]) gleichzeitig gefunden haben, daß sie auch im Ochsenpankreas in Verbindung mit einem Polynucleotid vorkommen kann.

Über die Natur dieses Polynucleotids sind die genannten Autoren nicht einig gewesen. *Feulgen* behauptet, daß die sogenannte Guanylnucleinsäure aus einem Molekül Guanylsäure und einem Molekül gewöhnlicher Thymonucleinsäure bestehe, während die von *E. Hammarsten* dargestellte „gekoppelte" Nucleinsäure eine andere Zusammensetzung vermuten läßt. Das Verhältnis N : P war im Ca—Na-Salz der Säure 1,88 $\left(\text{entsprechend } \frac{25\,N}{6\,P}\right)$ und die Proportionen zwischen Guanin und Adenin waren 3 : 1, wonach die Säure eine Verbindung zwischen 2 Mol. Guanylsäure und 1 Mol. Tetranucleotid sein könnte. Das hohe Verhältnis Pentose : N 1,74 läßt sich jedoch kaum mit der Annahme vereinigen, daß das Tetranucleotid Thymonucleinsäure wäre, denn dann müßte das Verhältnis Pentose : N in der „gekoppelten" Nucleinsäure 0,86 sein. Auch wenn das Kohlenhydrat der Thymonucleinsäure

[1]) *R. Feulgen*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **108**, 147, 1919.
[2]) *Einar Hammarsten*, ebendaselbst **109**, 141, 1920.

Furfurol geben kann, ist die Thymonucleinsäure als Furfurolbildner beim Analysieren ohne jede praktische Bedeutung. *Steudel*[1]) konnte bei der üblichen Destillation nach *Tollens* mit 12proz. HCl nur so viel Furfurol erhalten, wie 0,62 bis 0,26 Proz. Pentose entsprechen sollte. Eine merkbare Erhöhung im Verhältnis Pentose : N ist also durch Thymonucleinsäure nicht zu erwarten. Gewöhnlich ist dagegen, daß man aus bekannten pentosehaltigen Substanzen etwas zu niedrige Werte erhält. Die obenerwähnte Zahl 1,74 steht sehr nahe dem Verhältnis Pentose : N 1,71, welches erhalten wird, wenn Pentose auch in den beiden Purinnucleotiden des Tetranucleotids vorkommt. Wenn man dies berücksichtigt und dazu die Schwierigkeit, mit der die Pyrimidinnucleotiden Furfurol aus ihren Pentosen abgeben, kann man nicht ohne weiteres den Hinweis auf Hefenucleinsäure ablehnen.

In einer späteren Arbeit[2]) wurde aus Ochsenpankreas ein leichtlösliches Brucinsalz dargestellt, welches Pentose enthielt und als einzige Purinbase Adenin. Gegen diese Arbeit hat *Feulgen*[3]) Einwände erhoben, welche offenbar unbegründet sind. *Feulgen* ignoriert nämlich *Steudels* Angabe über die unbedeutende Rolle der Thymonucleinsäure als Furfurolbildner und gründet seine Kritik auf Behauptungen über die Zersetzbarkeit der Thymonucleinsäure, welche unrichtig sind.

Indessen hat *C. Berkeley*[4]) im Pankreas von Sqaulus Sucklii (Dogfish) eine Adeninpentosephosphorsäure gefunden, welche zusammen mit Guanylsäure vorkommt. Das zweite Pentosemononucleotid der Hefenucleinsäure sollte demnach auch im Tierreiche vorkommen. In der allerletzten Zeit hat *Henry Jackson* J : or[5]) einen interessanten Beitrag zu dieser Frage geliefert. Er behauptet nämlich, daß es ihm gelungen sei, aus Blutplasma nach Entfernen des Eiweißes mit Pikrinsäure durch Fällung mit Schwermetallsalzen eine pentosehaltige Purinnucleinsäure darzustellen, welche kein Guanin enthält, und demnach eine Adeninpentosephosphorsäure sein dürfte. Die Frage über das Vorkommen der Hefenucleinsäure im Tierreiche ist also aktuell, und in der folgenden Untersuchung habe ich auch versucht, die eventuell im Pankreas vorkommenden Pentosenucleotiden der Hefenucleinsäure zu finden.

Aus dem alkalischen Drüsenextrakt wurde ein Nucleoproteid mit Essigsäure ausgefällt und das Eiweiß mit Pikrinsäure nach *Levene* entfernt. Im eiweißfreien acetathaltigen Filtrat wurde die Thymonucleinsäure durch Alkohol gefällt. Der größte Teil der Nucleinsäuren,

[1]) *H. Steudel*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **56**, **212**, **1908**.
[2]) *Einar Hammarsten* und *Erik Jorpes*, ebendaselbst **118**, 224, **1922**.
[3]) *R. Feulgen*, ebendaselbst **123**, H. 4/6, S. 1, **1922**.
[4]) *C. Berkeley*, Journ. of biol. Chem. **45**, 263, **1921**.
[5]) *H. Jackson* J:or, Journ. of biol. Chem. **59**, 529, **1924**; **57**, 121, **1923**.

der noch in Lösung blieb, wurde dann mit Blei gefällt und nach Entfernen des Bleies die Brucinsalze gebildet. Von der bekannten Tatsache ausgehend, daß die Brucinsalze der Pyrimidinpentosenucleotiden schwer löslich sind, wurde es versucht, durch Umkristallisation aus 35proz. Alkohol diese neben Guanylsäure von Verunreinigungen zu befreien. Dabei gelang es mir auch, neben guanylsaurem Brucin zwei Brucinsalze zu erhalten, deren Löslichkeitsverhältnisse, Stickstoff- und Phosphorgehalt, mit denen der beiden Pyrimidinpentosenucleotiden übereinstimmten. Die vermutete Uracilpentosephosphorsäure wurde aus der im Wasser und 35proz. Alkohol schwer löslichen Fraktion der Brucinsalze nach zweistündigem Kochen mit 5proz. Schwefelsäure zur Zerstörung der Guanylsäure erhalten. Die Cytosinpentosephosphorsäure wurde in derselben Fraktion und außerdem auch unter den im Wasser leichter löslichen Brucinsalzen gefunden.

Experimentelles.

Etwa 300 Pankreasdrüsen vom Rinde wurden in Portionen von etwa 40 Drüsen zur Gewinnung des Materials verarbeitet. Die sofort nach dem Schlachten in Arbeit genommenen Drüsen wurden gut durchgefroren und in diesem Zustande in der Buchnerpresse zu Brei fein verteilt. Der Brei wurde dann in kaltem destillierten Wasser suspendiert und bei deutlich alkalischer Reaktion (Natronlauge) während 12 bis 20 Stunden bei 2 bis 3° C unter mehrmaligem Umschütteln extrahiert. Die festen Partikelchen wurden nach dieser Zeit abgeseiht und nochmals mit kaltem Wasser extrahiert. Der alkalische Drüsenauszug wurde dann mit Essigsäure neutralisiert und Säure zugesetzt, bis kein weiterer Niederschlag entstand. Der Niederschlag wurde in einer großen Zentrifuge (etwa 6000 Touren in der Minute) abgetrennt.

Aus dem Filtrat konnten zwei weitere pentosehaltige Niederschläge durch Zusatz von Bleiacetat, Filtrieren des entstandenen Niederschlages und Alkalisieren des Filtrats mit Ammoniak gewonnen werden. Die Pentosemenge verteilte sich auf diese drei Niederschläge folgendermaßen. Der aus dem Wasserauszuge von 40 Drüsen mit Essigsäure gewonnene feuchte Niederschlag betrug 3800 g, derselbe aus dem Filtrat nach Bleiacetatzusatz 476 g, und derjenige nach Alkalisieren 455 g.

10 g	von	dem	ersten	Niederschlage	enthielten	0,0551 g	Pentose (*Tollens*)
10 g	,,	,,	zweiten	,,	,,	0,0775 g	,,
10 g	,,	,,	,,	,,	,,	0,0653 g	,,
25 g	,,	,,	,,	,,	,,	0,132 g	,,
10 g	,,	,,	dritten	,,	,,	0,0358 g	,,

Nach diesen Analysen enthielt der erste Niederschlag etwa 20,9 g Pentose, der zweite 3,1 und der dritte 1,6 g. Das Filtrat von dem letzten

Niederschlage gab nach Eindampfen bei Destillation mit Salzsäure eine sehr kleine Furfurolmenge.

Obgleich nur vier Fünftel der pentosehaltigen Substanz mit Essigsäure als Nucleoproteid ausgefällt wurden, wurde das Filtrat von der Essigsäurefällung mit Hinsicht auf die Schwierigkeit der Entfernung des mit Blei ausgefällten Eiweißes und der Phosphate nicht näher untersucht.

Das mit Essigsäure ausgefällte Nucleoproteid wurde mit wenig Alkali in kaltem Wasser gelöst, wieder mit Essigsäure ausgefällt und abzentrifugiert. Die Entfernung des Eiweißes wurde mit Pikrinsäure nach der von *Levene*[1]) angegebenen Methode ausgeführt. Dabei wurde das aus 40 Drüsen gewonnene Nucleoproteid in 15 bis 18 Liter kalten, schwach alkalischen Wassers gelöst, mit Natronlauge bis zu einem Gehalt von 4 bis 5 Proz. versetzt und die Lösung 2 Stunden in einer Kältemischung digeriert. Dabei erstarrte die Flüssigkeit zu einer Gallerte. Nach dieser Zeit wurde der Alkaliüberschuß mit Eisessig in kleinen Portionen unter Umschütteln in der Kältemischung neutralisiert. Unter denselben Kautelen wurde zu der noch schwach alkalischen Flüssigkeit eine in der Hitze gesättigte Pikrinsäurelösung zugesetzt und nach Ansäuern mit Essigsäure der Eiweißniederschlag abfiltriert. Das Filtrat wurde mit Natronlauge neutralisiert, zu 70° rasch erhitzt und nachher in der Kälte aufbewahrt.

Bei Herstellung der Thymonucleinsäure nach *Levene*[2]) wird deren Natriumsalz aus einer acetathaltigen Wasserlösung mit Alkohol bis auf 50 bis 60 Vol.-Proz. ausgefällt, und *Feulgen*[3]) gibt an, daß auch guanylsaures Natrium unter denselben Bedingungen teilweise gefällt wird. Das obenerwähnte eiweißfreie Filtrat wurde darum mit Essigsäure angesäuert und mit etwas mehr als demselben Volumen 95proz. Alkohols versetzt. Ein allmählich sich flockender Niederschlag konnte abfiltriert werden. Dieser war biuretfrei und gab Pentosereaktionen und nach Hydrolyse eine schöne Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure. Der Niederschlag, der wahrscheinlich aus einer Mischung von thymonucleinsaurem und guanylsaurem Natrium bestand, wurde nicht näher untersucht und das Hauptinteresse dem leicht löslichen Rückstande gewidmet. Aus dem alkoholischen Filtrat konnten nämlich durch Fällung mit Bleiacetat, Filtrieren des ersten Niederschlages und Ammoniakzusatz zu dem Filtrat zwei bedeutende eiweißfreie, pentosehaltige Niederschläge erhalten werden. Wie Phosphorbestimmungen in zwei verschiedenen Fraktionen zeigten, konnte jedoch auf diese Weise nicht die ganze Nucleinsäuremenge erhalten werden, denn ¼ bis ⅓ des

---

[1]) *P. A. Levene*, Journ. of Amer. Chem. Soc. **22**, **329**, 1900.

[2]) *Derselbe*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **32**, **541**, 1901.

[3]) *R. Feulgen*, ebendaselbst **106**, **249**, **1919**.

Gesamtphosphors ging mit der letzten sehr voluminösen Filtratmenge verloren. Ein Versuch wurde gemacht, das Filtrat nach Eindampfen im Vakuum zu verarbeiten, aber ohne guten Erfolg.

Die mit Bleiacetat bei saurer bzw. ammoniakalischer Reaktion erhaltenen Niederschläge wurden mit 60proz. Alkohol, dieser einmal, jener dreimal gewaschen, dann in Wasser suspendiert und mit H_2S in 7 bis 8 Stunden behandelt. Nach Filtrierung und nochmaliger Behandlung des Sulfids mit H_2S in 12 Stunden wurden die Sulfidmengen aller Fraktionen vereinigt und H_2S noch zweimal durchgeleitet.

Bei der ersten achtstündigen Durchleitung von H_2S ging der größte Teil der Nucleinsäuren in Lösung in das Filtrat. Nach der zweiten H_2S-Behandlung wurden in einer Fraktion das Sulfid und die vereinigten Filtrate analysiert. Sulfidmenge (feucht) 50 g; Filtrat 452 ccm.

5 g Sulfid gaben	0,011 g $Mg_2P_2O_7$;	0,0031 g P
5 g „ „	0,0196 g $Mg_2P_2O_7$;	0,0055 g P
	Im Mittel . .	0,0043 g P
25 ccm Filtrat gaben	0,0543 g $Mg_2P_2O_7$;	0,0151 g P
25 „ „ „	0,0535 g $Mg_2P_2O_7$;	0,0149 g P
	Im Mittel . .	0,015 g P

0,043 g P im Sulfid entsprachen also 0,271 g P im Filtrat. Nach der letzten Behandlung des Sulfids mit H_2S betrug die Sulfidfraktion aus dem bei saurer Reaktion erhaltenen Bleiniederschlage 301 g.

10 g davon gaben 0,082 g $Mg_2P_2O_7$; 0,0229 g P; im gesamten Sulfid . . . . 0,689 g P
15 g davon gaben 0,1208 g $Mg_2P_2O_7$; 0,033 67 g P; im gesamten Sulfid . . . . 0,676 g P
Im Mittel im gesamten Sulfid. . . . 0,682 g P

Die Phosphormenge in den vereinigten Filtraten betrug 7,5 g.

Etwa dasselbe war auch das Verhältnis zwischen den Mengen des im Sulfid des ammoniakalischen Bleiniederschlages zurückgehaltenen Phosphors und desjenigen im Filtrat.

Das Verhältnis Pentose: P wurde in einigen Fraktionen des Sulfids bestimmt. Nach zweimaliger H_2S-Behandlung wurde ein Sulfid untersucht.

20 g davon gaben	0,059 g	Pentose (*Tollens*)
20 g „ „	0,0753 g	„
20 g „ „	0,0845 g	„
Im Mittel . .	0,073 g	Pentose
15 g Sulfid gaben	0,1112 g	$Mg_2P_2O_7$
15 g „ „	0,1118 g	$Mg_2P_2O_7$
Im Mittel . .	0,1115 g	$Mg_2P_2O_7$;

0,0311 g P, in 20 g Sulfid 0,0415 g P.

Das jedenfalls sehr unsichere Verhältnis Pentose: P würde also = 1,76 sein.

Nachdem das Sulfid des sauren Bleiniederschlages das letztemal mit H_2S behandelt war, enthielten:

10 g	0,041 32 g	Pentose
10 g	0,040 2 g	„
Im Mittel . . .	0,004 08 g	Pentose

10 g enthielten nach den oben angegebenen Analysen 0,0227 g P. Pentose: P = 1,8.

20 g Sulfid aus dem ammoniakalischen Bleiniederschlage	0,0451 g $Mg_2P_2O_7$	
20 g Sulfid aus dem ammoniakalischen Bleiniederschlage	0,0446 g $Mg_2P_2O_7$	
Im Mittel . . .	0,0449 g $Mg_2P_2O_7$	= 0,0125 g P

30 g Sulfid aus dem ammoniakalischen Bleiniederschlage	0,0212 g Pentose
30 g Sulfid aus dem ammoniakalischen Bleiniederschlage	0,029 g „
Im Mittel . . .	0,0251 g Pentose

Pentose : P = 1,34.

Die Filtrate waren biuretfrei und gaben mit ammoniakalischer Silbernitratlösung keine Fällung. Diejenigen von dem „sauren“ Niederschlage waren klar, ganz hell mit einem Stich ins Gelbe, während einige Filtrate vom ammoniakalischen Niederschlage von kolloidalem Sulfid etwas bräunlich waren. H_2S wurde mit Luft und die Pikrinsäure durch fünf- bis achtmaliges Ausschütteln mit Äther entfernt, wonach in heißem Methylalkohol gelöstes Brucin zu schwach alkalischer Reaktion zugesetzt wurde. Sofort fiel ein schwer lösliches Brucinsalz aus. Nach Eindampfen des Filtrats zu kleinem Volumen im Vakuum entstand ein zweiter Niederschlag. In Lösung blieb noch etwa ebensoviel phosphorhaltiges Brucinsalz zurück, wie auf diese Weise ausgefällt war.

Zwecks Reinigung der Brucinsalze und Aufspaltung etwaiger, trotz der früheren Alkalieinwirkung noch vorhandenen Polynucleotide wurden Niederschlag und Filtrat getrennt durch Zusatz von Natronlauge und nachheriges Ausschütteln mit Chloroform vom Brucin befreit, danach Natronlauge bis zu 1 Proz. zugesetzt und die Flüssigkeit 20 Minuten in strömendem Wasserdampf erhitzt. Nach Abkühlen wurde mit Essigsäure angesäuert und die Nucleinsäuren mit heißer 25proz. Bleiacetatlösung gefällt. Aus den Filtraten wurde nach Zusatz des gleichen Volumens Alkohol noch etwas Bleisalz gewonnen. Die Bleisalze wurden zweimal mit 50proz. Alkohol gewaschen, in Wasser suspendiert und dreimal in 6 bis 8 Stunden mit H_2S behandelt, wodurch beinahe die ganze Phosphormenge aus dem Sulfid frei wurde. Nunmehr waren die Filtrate völlig klar mit einem schwachen Stich ins Gelbe.

und durch Schütteln mit Äther konnte keine Pikrinsäure erhalten werden. Die beiden Filtrate wurden mit Brucin versetzt. Dabei entstand in dem vom schwer löslichen Brucinsalz herrührenden Filtrat sofort ein weißer, kristallinischer Niederschlag. Mit diesem wurde dann ein zweiter, nach Eindampfen des Filtrats im Vakuum erhaltener Niederschlag vereinigt. Diese Niederschläge werden im folgenden *schwer lösliches Brucinsalz* genannt. Das dem früheren wasserlöslichen phosphorhaltigen Brucinsalz entsprechende Brucinsalz wird *leicht lösliches Brucinsalz* genannt.

Das schwer lösliche Brucinsalz wurde in der Nutsche mit kaltem 35proz. Alkohol gewaschen und aus solchem dreimal umkristallisiert. Zur Lösung waren Siedehitze und eine große Flüssigkeitsmenge nötig. Die Niederschläge waren schneeweiß und die letzte Mutterlauge ganz farblos. Der Niederschlag wurde dann sorgfältig zweimal mit Chloroform ausgeschüttelt und in der Luft getrocknet. Gewicht 122 g.

0,1078 g verloren beim Trocknen im Vakuum (115°) 0,0113 g; entsprechend 10,48 Proz. Wasser und gaben 9,69 mg N (*Kjeldahl*). In der trockenen Substanz daraus berechnet . . . . 10,04 Proz. N

0,851 g verloren beim Trocknen im Vakuum (115°) 0,089 g; entsprechend . . . . 10,45 Proz. Wasser

Nach noch zweimaligem Ausschütteln mit Chloroform gaben:

0,1771 g im Vakuum getrockneter Substanz (115°) 17,79 mg N (*Kjeldahl*); entsprechend . . . . 10,05 Proz. N

0,1775 g im Vakuum getrockneter Substanz (115°) 17,89 mg N (*Kjeldahl*); entsprechend . . . . 10,08 „ N

Im Mittel . . . 10,07 „ N

0,8759 g im Vakuum getrockneter Substanz (115°) 0,0846 g $Mg_2P_2O_7$ (*Woy*); 0,0236 g P . . . . 2,69 Proz. P

0,8724 g im Vakuum getrockneter Substanz (115°) 0,0866 g $Mg_2P_2O_7$ (*Woy*); 0,0241 g P . . . . 2,76 „ P

Im Mittel . . . 2,73 Proz. P

Mikroanalysen (*Pregl*):

4,613 mg Substanz gaben 8,69 mg Molybdat . . . . 2,74 Proz. P
9,303 „ „ „ 17,25 „ „ . . . . 2,69 „ P

Im Mittel . . . 2,72 Proz. P

0,6344 g lufttrockener Substanz gaben 0,0468 g Phloroglucid, 0,0576 g Pentose . . . . . 10,14 Proz. Pentose auf wasserfreie Substanz berechnet:

0,4724 g lufttrockener Substanz gaben 0,038 g Phloroglucid; 0,0479 g Pentose . . . . 11,33 „ Pentose

Im Mittel . . . 10,74 Proz. Pentose

Pentose : P = 3,93.

Das wasserfreie Tetrabrucinsalz der Thymonucleinsäure enthält 10,87 Proz. N und 4,19 Proz. P $[C_{43}H_{57}N_{15}O_{30}P_4(C_{23}H_{26}N_2O_4)_4]$,

während das Dibrucinsalz der Guanylsäure $[C_{10}H_{14}N_5O_8P(C_{23}H_{26}N_2O_4)_2]$ ohne Kristallwasser 10,95 Proz. N und 2,69 Proz. P enthält. Der niedrige N-Wert 10,07 Proz. nach den obigen Analysen deutet eine Beimischung anderer Brucinsalze an. Daß das freie Brucin $(C_{23}H_{26}N_2O_4)$ mit 7,11 Proz. N entfernt ist, zeigen die Analysen vor und nach dem Ausschütteln mit Chloroform. Am nächsten liegt es, an eine Verunreinigung mit thyminsaurem Brucin zu denken. *Feulgen*[1]) behauptet auch, daß Thymonucleinsäure beim Freimachen derselben aus ihren Schwermetallsalzen mit H_2S zum Teil zerstört werde, eine Behauptung, die experimenteller Stütze bedarf, besonders da *E. Hammarsten*[2]) ohne jeweilige Zersetzung Thymonucleinsäure aus deren Alkalisalze durch Behandlung mit n/3 HCl dargestellt hat und keine Spaltung der freien Thymonucleinsäure trotz mehrstündiger Einwirkung kleiner HCl-Konzentrationen bei Zimmertemperatur finden konnte.

Indessen ist wenigstens die größte Menge der Thymonucleinsäure hier beim Präparieren weggenommen. Quantitativ ist die Ausfällung durch den erwähnten Alkoholzusatz nach Entfernung des Eiweißes jedoch nicht. Zum Vergleich wurde 1 g Thymonucleinsäure in 200 ccm Wasser gelöst, mit Alkali zu 4 Proz. versetzt und die Lösung mit Eisessig neutralisiert, wonach Alkohol zu 60 Proz. zugesetzt wurde. Nach Abfiltrieren des Niederschlages fanden sich 2,158 mg N bzw. 0,0143 g Thymonucleinsäure im Filtrat. Die durch Alkohol nicht gefällte Thymonucleinsäure, die bei der großen Präparation im Bleiniederschlage mitgerissen worden war, muß aber, durch H_2S frei gemacht, im Sulfid bleiben. Die freie Thymonucleinsäure wird nämlich durch diese Behandlung fast unlöslich in Wasser, wird aber nicht zersetzt. Auch können die niedrigen Pentosewerte im Sulfid (Pentose: P = 1,34 — 1,8, während es in Guanylsäure 4,87 ist) in dieser Richtung sprechen. Wie die angegebenen Phosphoranalysen zeigen, sind hier mehr als neun Zehntel von den Nucleinsäuren als wasserlöslich in das Filtrat gegangen. Nach *Feulgen* sollten in der Lösung nur Guanylsäure und Zersetzungsprodukte der Thymonucleinsäure in Frage kommen. In seiner oben erwähnten Kritik der Arbeit von *E. Hammarsten* und *E. Jorpes* supponiert er, daß der allergrößte Teil der Nucleinsäuren beim Freimachen derselben aus ihrem Cu-Salze als freie Thymonucleinsäure im Sulfid steckengeblieben war, während nur Guanylsäure und Zersetzungsprodukte der Thymonucleinsäure im Filtrat zur Untersuchung gelangt waren. In der Wirklichkeit bleibt unzersetzte Thymonucleinsäure im Sulfid, während alle Mononucleotide in das Filtrat gehen. Wäre der N-Wert durch *Feulgens* hypothetische Zersetzungsprodukte erniedrigt worden,

[1]) *R. Feulgen*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **123**, H. 4/6, S. 1, 1922.
[2]) *E. Hammarsten*, diese Zeitschr. **144**, H. 5/6, 1924.

müßte auch gleichzeitig der P-Wert erhöht werden. Thyminsaures Tetrabrucinsalz [$C_{33}H_{51}O_{31}N_5P_4(C_{23}H_{26}N_2O_4)_4$] enthält 6,72 Proz. N und 4,58 Proz. P. Der nach Makro- und Mikroanalysen übereinstimmende P-Wert, 2,73 Proz., ist so niedrig, wie er nur in den Dibrucinsalzen der einfachen Nucleotiden vorkommt. Das wasserfreie Dibrucinsalz der Guanylsäure [$C_{10}H_{14}N_5O_8P(C_{23}H_{26}N_2O_4)_2$] enthält 2,69 Proz. P und dasjenige der Uracilpentosephosphorsäure [$C_9H_{13}N_2O_9P(C_{23}H_{26}N_2O_4)_2$] 2,79 Proz. Aus der Thymonucleinsäure können weder durch gelinde alkalische Hydrolyse bei Zimmertemperatur oder kurzzeitiges Erhitzen, noch durch H_2S-Behandlung einzelne Nucleotide entstehen oder Phosphorsäure abgespaltet werden. Ich bin darum geneigt, die N- und P-Werte dadurch zu erklären, daß hier, im schwer löslichen Brucinsalz, eine Mischung von Guanylsäure und stickstoffärmeren Pyrimidinpentosenucleotiden vorhanden war.

Die zwei Pentosebestimmungen gaben auch ein Verhältnis Pentose :P von 3,98 an, während das berechnete 4,87 ist. Wenn man berücksichtigt, daß die Pentosebestimmungen gewöhnlich zu niedrige Werte liefern, und besonders daß die Pyrimidinnucleotide mit Schwierigkeit und nur nach längerem Kochen Furfurol geben, machen auch diese Werte eine Zumischung von Zersetzungsprodukten der Thymonucleinsäure unwahrscheinlich. Im Sulfid dagegen, wo die Thymonucleinsäure zu erwarten war, gaben die Pentosebestimmungen ein Verhältnis Pentose : P = 1,34 — 1,8.

Die durch den niedrigen P-Gehalt gegebene Vermutung, daß Dibrucinsalze vorliegen müßten, wurde durch Bestimmungen von dem Brucin- und Kristallwassergehalt bestätigt. Bei der später zu erwähnenden sauren Hydrolyse des schwer löslichen Brucinsalzes wurde das Brucin in 24,96 g lufttrockenem Brucinsalz quantitativ bestimmt. Das Salz wurde in 35proz. Alkohol in der Hitze unter Ammoniakzusatz gelöst. Nach dem Abkühlen wurde das Brucin an der Nutsche filtriert, mit Wasser gewaschen, in Chloroform aufgenommen und dazu noch das aus der Mutterlauge durch Ausschütteln mit Chloroform erhaltene Brucin addiert. Nach Entfernen des Chloroforms und Trocknen bei 105° während 24 Stunden wurden 15,27 g Brucin gefunden.

Berechnet für guanylsaures Brucin (mit Kristallwasser) 61,72 Proz. Brucin [$C_{10}H_{14}N_5O_8P(C_{23}H_{26}N_2O_4)_2 + 7\ H_2O$]. Gefunden 61,18 Proz.

Dibrucinsalze der Pentosenucleotiden enthalten pro Molekül 7 Mol Wasser oder in demjenigen der Guanylsäure 9,88 Proz. und in Uracilpentosephosphorsäure 10,18 Proz. [$C_9H_{13}N_2O_9P(C_{23}H_{26}N_2O_4)_2 + 7\ H_2O$]. Gefunden 10,48 Proz.

Um eine Vorstellung über die Verteilung des Phosphors auf Purin- und Pyrimidinnucleotide zu bekommen, wurde die mit Säure leicht

abspaltbare Phosphormenge bestimmt[1]). Im Vakuum bei 105° getrocknetes schwer lösliches Brucinsalz wurde in drei Portionen abgewogen und in 100 ccm 5proz. (Vol.) H_2SO_4 auf dem Wasserbade mit Rückflußkühler 1½ Stunden gekocht. Die heiße Lösung wurde ammoniakalisch gemacht und über Nacht in der Kälte aufbewahrt. Ausgefallenes Brucin und Guanin wurden abfiltriert, mit wenig Wasser gekocht und das Wasser nach Abkühlen und Filtrieren zum Filtrat gefügt. Aus dem erwärmten ammoniakalischen Filtrat wurden die Phosphate mit Magnesiamixtur ausgefällt, der Niederschlag nach 12stündigem Stehen in der Kälte in einem Platina-Iridiumgoochtiegel filtriert und im Ofen geglüht.

0,9023 g gaben 0,0705 g $Mg_2P_2O_7$ bzw. . . . . 0,01965 g P
korr. 0,000375 g P
0,019276 g P

Total-P (ber. nach 2,73 Proz.) 0,02463 g. P in Purinnucleotiden gefunden: **78,17 Proz.**

1,1461 g (in 1½ Stunden gekocht) gaben 0,0843 g $Mg_2P_2O_7$ bzw. . . . . 0,023494 g P
korr. 0,000375 g P
0,023119 g P

Total-P 0,03129 g. P in Purinnucleotiden gefunden **78,89 Proz.**

0,8227 g (in 3½ Stunden gekocht); 0,0656 g $Mg_2P_2O_7$ bzw. 0,018283 g P
korr. für 3½stündiges Kochen . . . 0,000875 g P
0,017408 g P

Total-P 0,02246 g. P in Purinnucleotiden gefunden: **77,48 Proz.**

Die Pyrimidinkorrektion ist nach *Jones* und *Read* berechnet. Diese geben an, daß nach einstündigem Kochen mit 5proz. H_2SO_4 aus 1 g Pyrimidinnucleotid 20 mg $NH_4MgPO_4 . 6 H_2O$ bzw. 2,5 mg P erhalten werden. Nach dem N-Werte 10,04 Proz. im Brucinsalz sind 26,6 Proz. von den Nucleinsäuren Pyrimidinnucleotide, als Uracilpentosephosphorsäure berechnet, etwas mehr, wenn diese zusammen mit Cytosinpentosephosphorsäure vorkommt. Unter solchen Umständen kommt auf 1 g Brucinsalz etwa 0,1 g Pyrimidinnucleotid, was für 1½stündiges Kochen eine Korrektion von nur 0,37 mg P fordert.

Die drei Bestimmungen stimmen gut überein und zeigen, daß im Mittel 76,5 Proz. des Gesamtphosphors leicht abspaltbar, während 23,5 Proz. in Pyrimidinnucleotiden gebunden waren, eine Zahl, die nicht bedeutend von der aus dem Stickstoffwert berechneten abweicht.

Obgleich Farbenreaktionen zum Unterscheiden zwischen Thymonucleinsäure und Pentosenucleinsäuren trügerisch sein können, hat man jedoch, wie *Feulgen* nachgewiesen hat, großen Nutzen von der Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure, der grünen Fichtenspanreaktion und

[1]) *W. Jones, B. E. Read,* Journ. f. biol. Chem. **31**, 41, 1917.

Bials Reaktion. Wenigstens die erstere fordert jedoch sehr genaues Arbeiten, scheint aber dann zuverlässig zu sein. Mit dem schwer löslichen Brucinsalz wurde die erste und dritte Reaktion ausgeführt, um eine eventuelle Beimengung von Thymonucleinsäure oder deren Zersetzungsprodukten zu finden.

Zuerst wurde die Empfindlichkeit der Reaktionen geprüft. Eine Thymonucleinsäurelösung mit 0,33 mg N bzw. 2,18 mg Thymonucleinsäure auf 1 ccm wurde bereitet.

5 ccm davon wurden mit 5 ccm konzentrierter HCl versetzt und 10 Minuten im Wasserbade hydrolysiert. Das Hydrolysat wurde genau mit NaOH neutralisiert (Volumen nach Neutralisation 15 ccm).

1 ccm von dieser Lösung gab eine deutliche violette Färbung mit 2 ccm entfärbter Fuchsinlösung.

0,5 ccm gaben nach 15 Minuten eine schwache Färbung mit 2 ccm entfärbter Fuchsinlösung.

7 ccm von der erwähnten Thymonucleinsäurelösung wurden mit 1 ccm 20proz. H_2SO_4 im Wasserbade 15 Minuten hydrolysiert. Volumen nach Neutralisation 30 ccm.

1 ccm davon gab noch positive Reaktion mit 2 ccm fuchsinschwefliger Säure, aber 0,5 ccm gaben die Reaktion nicht mehr.

Die Reaktion ist also unter diesen Bedingungen empfindlich für 0,7 bis 0,5 mg Thymonucleinsäure.

Dann wurde der obenerwähnte, nach Entfernen des Eiweißes mit Alkohol erhaltene, als eine Mischung von Guanylsäure und Thymonucleinsäure supponierte Niederschlag geprüft. Eine schwache Lösung wurde mit Säure hydrolysiert und das Hydrolysat neutralisiert. 15 ccm davon gaben bei P-Bestimmung 0,0226 g $Mg_2P_2O_7$ bzw. 0,0063 g P oder 0,0705 g Thymonucleinsäure, wenn alles als Thymonucleinsäure berechnet wird. Mit 5 ccm wurde eine schöne Violettfärbung erhalten, mit 1 ccm eine noch wahrnehmbare.

Zu den Reaktionen wurde eine völlig farblose Fuchsinlösung verwendet, aus welcher SO_2 im Vakuum entfernt war. Beim Ausführen der Reaktionen muß eine Reaktion des Hydrolysats auf der alkalischen Seite streng vermieden werden, denn sonst färbt sich das Fuchsin hochrot bei Zusatz einer größeren Menge des Hydrolysats und läßt keine Ablesung zu. Darum ist es nötig, eine sehr schwach saure Reaktion zu haben, was auch von *K. Josephson*[1]) näher hervorgehoben worden ist.

Mit der obenerwähnten reinen Thymonucleinsäurelösung wurde auch *Bials* Reaktion ausgeführt. 1 ccm davon + 5 ccm konzentrierter HCl + 2 Tropfen $FeCl_3$-Lösung + Orcin wurde über der freien Flamme erhitzt. Sofort trat eine braunviolette Farbe hervor, die bei weiterem

[1]) *K. Josephson*, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **56**, H. 7, S. 1771, 1923.

Kochen ins Grüne überging. 0,5 ccm gaben deutliche Braunfärbung, 0,3 ccm eine schwache und 0,1 ccm eine winzige Nuance ins Violette. *Bials* Reaktion gibt also, auf diese Weise ausgeführt, mit 1 mg Thymonucleinsäure eine deutliche Braunfärbung. Wird die Reaktion mit reiner Guanylsäure gemacht, tritt nach etwas längerem Kochen eine reine Grünfärbung ein.

Danach wurde das schwer lösliche Brucinsalz auf diese Reaktionen geprüft. 1 g wurde in 4 ccm 2 n H_2SO_4 im Wasserbade hydrolysiert, 4 ccm 2 n NaOH zugesetzt und die Flüssigkeit abgekühlt. Das Brucin wurde abfiltriert und gewaschen und die Reaktion kontrolliert. Volumen 10 ccm. Einige Tropfen davon gaben mit Fuchsinlösung innerhalb einer halben Stunde keine Färbung. 1 ccm davon gab mit 4 ccm Fuchsinlösung in derselben Zeit auch keine Färbung. 5 ccm verhielten sich in derselben Weise.

Bials Reaktion wurde mit 0,5 g Brucinsalz ausgeführt. Nach etwas längerem Kochen erschien eine reine Grünfärbung ohne vorherige braunviolette Nuance. Diese Reaktionen sprechen sehr kräftig gegen eine Beimengung von Thymonucleinsäure oder deren Zersetzungsprodukte.

Nicht ohne Interesse wäre es auch, in diesem Zusammenhang die Löslichkeitsverhältnisse des Brucinsalzes der Thyminsäure zu untersuchen. Darum wurde Thyminsäure aus 8 g reiner Thymonucleinsäure in der von *Feulgen*[1]) angegebenen Weise dargestellt. Ausbeute 2,5 g mit Alkohol und Äther getrocknetes Bariumsalz.

0,2273 g lufttrocken gaben 9,807 mg N (*Kjeldahl*)	4,31 Proz. N
0,2344 g „ „ 9,919 „ N („)	4,23 „ N
	4,27 Proz. N

10,990 mg lufttrocken gaben 51,34 mg Molybdat; Faktor 0,014747; 6,89 Proz. P. Gefunden N : P = 0,62; für reine Thyminsäure 0,56 (*Feulgen*).

Aus diesem Salze wurde dann das Barium quantitativ mit Schwefelsäure und die Schwefelsäure mit Bariumhydrat entfernt. Zu der von Ba^{++} und $SO_4^{''}$ befreiten Lösung wurde dann Brucin zu neutraler Reaktion zugesetzt. Bis zum nächsten Tage bildete sich kein Niederschlag. Die im Vakuum zu 10 ccm eingedampfte Flüssigkeit wurde abgekühlt, ohne daß Kristallisation eintrat. Auch nach Zusatz von Alkohol zu 35 Proz. und Abkühlen im Eisschrank wurde keine Kristallisation erreicht. Wie zu vermuten war, erwies sich das Brucinsalz der Thyminsäure als sehr leicht löslich; es ist deshalb auch nicht in dem mehrmals aus großen Flüssigkeitsmengen umkristallisierten schwer löslichen Brucinsalz zu erwarten.

[1]) *R. Feulgen*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 101, 296.

Zur Trennung der einzelnen Nucleotide wurde das schwer lösliche Brucinsalz in das Ammoniumsalz umgewandelt und die Lösung nach Zusatz von Alkohol zu 60 Proz. zur Kristallisation des Ammoniumsalzes der Guanylsäure gestellt. Das abgeschiedene Ammoniumsalz der Guanylsäure wurde filtriert und nach Eindampfen des Filtrats derselbe Prozeß wiederholt. Die Guanylsäure konnte jedoch auf diese Weise nicht vollständig entfernt werden. Um eine sichere Abtrennung der Purinnucleotiden zu erreichen, wurde saure Hydrolyse nach *Levene* und *Jacobs*[1]) gewählt, obgleich nur eine sehr kleine Ausbeute an reinen Pyrimidinnucleotiden zu erwarten war. Die Purinnucleotiden werden durch Mineralsäure in der Hitze völlig zerstört.

Das schwer lösliche Brucinsalz wurde in Portionen von 20 g behandelt. Diese wurden in 500 ccm siedeheißem 35proz. Alkohol unter Kochen gelöst und zur heißen Lösung etwas mehr als die äquivalente Menge Ammoniak zugesetzt. Das ausgefällte Brucin wurde an der Nutsche abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Nachdem das Filtrat mit Chloroform von Brucin befreit worden war, wurde es im Vakuum zu 100 ccm eingedampft und in der Weise von Alkohol und Ammoniak befreit. Die neutral reagierende Lösung des Ammoniumsalzes erstarrte zu einer Gallerte.

Mit 5proz. (Vol.) H_2SO_4 wurde die Lösung 2 Stunden unter Rückfluß auf dem Wasserbade gekocht. Zu dem heißen Hydrolysat wurde fein pulverisiertes, zum Teil in heißem Wasser gelöstes Silbersulfat zugesetzt und am folgenden Tage die Silberpurine abfiltriert. In heißem Wasser gelöstes Silbersulfat wurde nochmals zugesetzt und die Flüssigkeit mit Bariumhydratlösung gegen Lackmus schwach alkalisch gemacht. Es entstand ein aus Bariumsulfat, Bariumphosphat und Silbersalzen der Pyrimidinnucleotiden zusammengesetzter Niederschlag, welcher, zweimal mit Wasser in der Zentrifuge gewaschen, in Wasser suspendiert und nach Ansäuern mit H_2SO_4 vom Silber mit H_2S befreit wurde. Das Filtrat wurde mit Luft von H_2S befreit, die freie Phosphorsäure mit $Ba(OH)_2$ gefällt und aus dem letzten Filtrat Ba- und SO_4-Ionen aufs genaueste quantitativ mit H_2SO_4 und $Ba(OH)_2$ entfernt. Die wasserklare Flüssigkeit reagierte dann stark sauer und enthielt Phosphor. In einigen Fraktionen wurde das Filtrat im Vakuum eingedampft und das freie Pyrimidinnucleotid mit absolutem Alkohol gefällt, in anderen wieder, wenn die Kristallisation der supponierten Uracilpentosephosphorsäure aus Methylalkohol nicht gelang, das Brucinsalz unmittelbar im Filtrat gebildet. Wenn zu diesem Filtrat in Methylalkohol gelöstes Brucin zur neutralen Reaktion gesetzt wurde, entstand sofort ein schneeweißer kristallinischer Niederschlag. Das Brucinsalz ließ sich

[1]) *Levene* und *Jacobs*, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **44**, 1027, 1911.

dann wegen seiner Schwerlöslichkeit nur mit größter Schwierigkeit in der Siedehitze in 35proz. Alkohol lösen und vor der Kristallisation im Heissetrichter filtrieren.

Die erste Fraktion gab nach zweimaliger Umkristallisation aus 35proz. Alkohol 0,1993 g im Vakuum getrocknetes Brucinsalz. Das freie Brucin wurde hier mit heißem Methylalkohol entfernt, während das trockene Brucinsalz der übrigen Fraktionen vor dem Analysieren mit warmem Chloroform gewaschen wurde.

Die Makro- und Mikroanalysen (nach *Pregl*) dieses Salzes gaben folgende Werte: 0,0789 g im Vakuum getrockneter Substanz gaben 6,352 mg N (*Kjeldahl*), 8,05 Proz. N.

4,727 mg im Vakuum getrockneter Substanz 0,338 ccm (korr.) N (*Dumas-Pregl*); 19°, 756 mm . . . . 8,32 Proz. N
4,234 mg im Vakuum getrockneter Substanz 0,292 ccm (korr.) N (*Dumas-Pregl*); 18°, 757 mm . . . . 8,06 „ N
Im Mittel . . . 8,14 Proz. N

6,548 mg im Vakuum getrockneter Substanz 11,60 mg Molybdat Faktor 0,014524 . . . . 2,57 Proz. P
6,758 mg im Vakuum getrockneter Substanz 12,9 mg Molybdat. 2,77 „ P
Im Mittel . . . 2,67 Proz. P

Berechnet für das Dibrucinsalz der Uracilpentosephosphorsäure (wasserfrei) $[C_9H_{13}N_2O_9P(C_{23}H_{26}N_2O_4)_2]$ 7,56 Proz. N, 2,79 Proz. P.

Berechnet für das Dibrucinsalz der Cytosinpentosephosphorsäure $[C_9H_{14}N_3O_8P(C_{23}H_{26}N_2O_4)_2]$ 8,82 Proz. N, 2,79 Proz. P.

Es war also gelungen, aus dem schwer löslichen Brucinsalz ein sicher von Purinnucleotiden freies (gemischtes) Brucinsalz darzustellen, dessen N- und P-Werte mit denen der Pyrimidinpentosenucleinsäuren übereinstimmten.

Weil das Brucinsalz der Cytosinpentosephosphorsäure etwas löslich in kaltem 35proz. Alkohol ist, benutzen die amerikanischen Autoren, die mit Hefenucleinsäure gearbeitet haben, achtmalige Umkristallisation aus 35proz. Alkohol, um Uracil- von Cytocinpentosephosphorsäure zu trennen. Das Brucinsalz der letzteren geht dann in die Mutterlauge und kann daraus erhalten werden.

Das Brucinsalz mit 8,14 Proz. N wurde darum noch sechsmal aus 35proz. Alkohol im Heissetrichter umkristallisiert und der letzte Niederschlag wieder analysiert. Gewicht lufttrocken 8,9 mg; im Vakuum getrocknet 8,2 mg.

7,99 mg im Vakuum getrockneter Substanz 0,522 ccm (korr.) N; 20°; 7,65 mm . . . . 7,66 Proz. N
Berechnet . . . . 7,56 Proz. N

Aus der Mutterlauge wurden 16,8 mg lufttrockenes Brucinsalz erhalten, welches nach Trocknen im Vakuum 15,1 mg wog; Kristallwasser 10,12 Proz. (Berechnet für cytosinpentosephosphorsaures Dibrucinsalz 10,19 Proz.)

Leider ging beim Analysieren das Material verloren, so daß der zu erwartende höhere N-Wert hier nicht bestätigt werden konnte. Indessen war durch das weitere Umkristallisieren der N-Wert von 8,14 Proz. auf 7,66 Proz in dem schwer löslichen Salze, d. h. auf denselben des Dibrucinsalzes der Uracilpentosephosphorsäure erniedrigt worden. Der für cytosinpentosephosphorsaures Brucinsalz geforderte N-Wert wurde in einer folgenden Fraktion erhalten.

Die in der oben angegebenen Weise aus dem schwer löslichen Brucinsalz durch Hydrolyse dargestellten Brucinsalze der Pyrimidinnucleotiden konnten in einer anderen Fraktion genauer anaylsiert werden. Nach achtmaliger Umkristallisation des Brucinsalzes mit Hilfe des Heissetrichters aus 35 proz. Alkohol wurden 0,4644 g Brucinsalz und aus der Mutterlauge nach Eindampfen zu kleinerem Volumen 0,1556 g Brucinsalz erhalten. Aus den Brucinsalzen wurde vor dem Umkristallisieren freies Brucin mit warmem Chloroform entfernt. 0,4644 g von dem weniger löslichen Brucinsalz, welches uracilpentosephosphorsaurem Brucin entspricht, verloren beim Trocknen im Vakuum bei 105° 0,0427 g; Gewichtsverlust 9,19 Proz. Berechnet 10,18 Proz. Kristallwasser $[C_9H_{13}N_2O_9P(C_{23}H_{26}N_2O_4)_2 + 7\ H_2O]$.

Schmelzpunkt gefunden 183 bis 185°, nach *Levene* 185 bis 195°, nach *Tannhäuser* 175 bis 177°.

Mikroanalysen (*Dumas-Pregl*):

12,023 mg im Vakuum getrocknet 0,757 (korr.) ccm, 17°, 753 mm	7,34 Proz.	N
15,811 mg im Vakuum getrocknet 1,009 (korr.) ccm, 20°, 765 mm	7,48 „	N
6,887 mg im Vakuum getrocknet 0,441 (korr.) ccm, 17°, 762 mm	7,56 „	N
Im Mittel	7,46 Proz.	N
Berechnet in dem wasserfreien Brucinsalz	7,56 „	N

Phosphorbestimmungen nach *Pregl*:

7,33 mg im Vakuum getrocknet 12,58 mg Molybdat	2,50 Proz.	P
5,19 „ „ „ „ 9,05 „ „	2,51 „	P
7,83 „ „ „ „ 13,9 „ „	2,55 „	P
Im Mittel	2,52 Proz.	P
Berechnet in dem wasserfreien Brucinsalz	2,79 „	P

N : P: gef. 2,96, ber. 2,72.

Das Brucinsalz aus der Mutterlauge, welches cytosinpentosephosphorsaurem Brucin entspricht, wog lufttrocken 0,1556 g; im

Vakuum bei 105° getrocknet 0,1413 g; Gewichtsverlust 9,19 Proz.; berechnet 10,19 Proz. [$C_9H_{14}N_3O_8P(C_{23}H_{26}N_2O_4)_2 + 7 H_2O$].

Schmelzpunkt 191 bis 193°, nach *Levene* 180 bis 182°.

11,107 mg im Vakuum getrocknet 0,7965 ccm (korr.), 17,5° 754 mm	8,36 Proz. N
10,31 mg im Vakuum getrocknet 0,7485 ccm (korr.), 18° 753 mm	8,44 „ N
6,845 mg im Vakuum getrocknet 0,5035 ccm (korr.), 17°, 753 mm	8,58 „ N
Im Mittel . . .	8,46 Proz. N

Berechnet für cytosinpentosephosphorsaures Dibrucinsalz (wasserfrei) 8,82 Proz. N.

Leicht lösliches Brucinsalz. Beim Isolieren der Brucinsalze der einzelnen Nucleotide aus Hefenucleinsäure durch Umkristallisation mit 35proz. Alkohol geht Adeninpentosephosphorsäure nebst einem Teil der Cytosinpentosephosphorsäure in die Mutterlauge, während Guanylsäure mit den Pyrimidinnucleotiden im Niederschlage steckt. Hier konnte man darum erwarten, die zwei erstgenannten in dem *leicht löslichen Brucinsalz* (S. 233) zu finden. Das leicht lösliche Brucinsalz wurde darauf untersucht, aber ohne anderen Erfolg, als daß ein Brucinsalz erhalten wurde, dessen N- und P-Werte mit denen der Cytosinpentosephosphorsäure übereinstimmte, und das nach Umwandlung in Bleisalz die dieser Säure entsprechende Zusammensetzung zeigte. Das der Guanylsäure entsprechende Adeninnucleotid konnte indessen nicht hergestellt werden.

Das mit Bleiverbindungen stark verunreinigte leicht lösliche Brucinsalz wurde über Ammoniumsalz in Bleisalz umgewandelt. Ein Versuch wurde dabei gemacht, durch Zusatz von Alkohol zu 60 Proz. eventuell in Lösung vorhandene Guanylsäure als Ammoniumsalz auskristallisieren zu lassen. Nur eine winzige Fällung entstand, welche abfiltriert wurde, wonach die Flüssigkeit eingedampft, mit Essigsäure neutralisiert und mit 25 Proz. Bleiacetat gefällt wurde. Ausbeute 69 g Bleisalz.

Dieses gab mit *Bials* Reagens keine violette, sondern eine rein grüne Farbe. Auch die Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure war negativ, gleichzeitig als eine viel schwächere Lösung von Thymonucleinsäure nach einer halben Stunde deutliche Violettfärbung gab. Das Bleisalz gab nach Kochen mit Säure in einer Probe eine unbedeutende Fällung mit ammoniakalischem Silbernitrat.

0,0836 g im Vakuum getrocknet (105°) 3,973 mg N (*Kjeldahl*)	4,75 Proz. N
0,1155 „ „ „ „ (105°) 5,399 „ N („)	4,67 „ N
Im Mittel . . .	4,71 Proz. N

0,6784 g im Vakuum getrocknet (105°) 0,1018 g $Mg_2P_2O_7$, 0,02837 g P . . . . . 4,18 Proz. P

Dann wurde das Blei mit H_2S entfernt und die Filtrate mit $Ba(OH)_2$ zu schwach alkalischer Reaktion versetzt. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und mit viel Wasser mehrmals ausgekocht. Ein kleinerer Teil, der die freien Phosphate enthielt, blieb ungelöst. Aus den Filtraten fiel beim Eindampfen und Abkühlen ein Bariumsalz aus und nach Zusatz von Alkohol zu 60 Vol.-Proz. konnte ein zweites erhalten werden. Keines von diesen gab jedoch eine erwünschte Proportion N : P. In dem schwer löslichen Bariumsalz (lufttrocken 8 g) war N : P 1,10, in dem leicht löslichen (lufttrocken 12 g) = 0,85. Darum wurden die Salze vereinigt und das Barium mit Schwefelsäure und die Schwefelsäure mit Bariumhydrat quantitativ entfernt, wonach die sauer reagierende Lösung mit Brucin neutralisiert wurde.

Die Flüssigkeit wurde unter niedrigem Drucke zu etwa 50 ccm eingedampft. Nach einem Tage hatte sich ein Brucinsalz abgeschieden, welches zweimal aus Wasser umkristallisiert und in heißem Methylalkohol gelöst wurde.

Der Methylalkohol wurde dann verdampft und das Salz vor dem Analysieren mit warmem Chloroform gewaschen.

5,725 mg	im Vakuum getrocknet (105°) 0,338 ccm (korr.) N, 16,5°, 762 mm	6,98 Proz. N
5,296 mg	im Vakuum getrocknet (105°) 0,331 ccm (korr.) N, 18°, 761 mm	7,34 „ N
	Im Mittel . . .	7,16 Proz. N
	Berechnet für: $C_9H_{14}N_3O_8P(C_{23}H_{26}N_2O_4)_2$ . . .	8,82 „ N
5,822 mg	im Vakuum getrocknet (105°) 13,55 g Molybdat .	3,38 Proz. P
15,193 „	„ „ „ (105°) 34,85 g „ .	3,33 „ P
8,297 „	„ „ „ (105°) 19,25 g „ .	3,37 „ P
	Im Mittel . . .	3,36 Proz. P
	Berechnet für: $C_9H_{14}N_3O_8P(C_{23}H_{26}N_2O_4)_2$ . . .	2,79 „ P

Das Brucinsalz der Cytosinpentosephosphorsäure soll in heißem Methylalkohol löslich sein und wird am besten, nach *Tannhäuser*[1]), aus Wasser umkristallisiert. Weil zu erwarten war, daß dieses Salz zum Teil unter den wasserlöslichen Brucinsalzen zu finden sein dürfte, konnte man hoffen, dasselbe durch wiederholte Umkristallisation aus Wasser von leicht löslichen Verunreinigungen befreien zu können.

Obgleich die Kristallisation aus der sirupösen, auch bei großer Verdünnung starke Pentosereaktionen gebenden Mutterlauge sehr schlecht ging, konnten beim Eindampfen mehrere Fraktionen von Brucinsalzen erhalten werden, ebenso beim Kristallisieren nach Alkoholzusatz zu 60 Proz. Alle diese wurden vereinigt, zweimal aus Wasser umkristallisiert und mit kaltem Alkohol, absolutem Alkohol und zuletzt mit warmem Chloroform gewaschen. Das Salz entsprach dann dem

[1]) *Tannhäuser*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 104, 75, 1918.

oben analysierten Brucinsalz und wurde zur weiteren Reinigung fünfmal aus Wasser und zuletzt zweimal aus 35proz. Alkohol umkristallisiert.

Lufttrocken 0,2791 g, verloren beim Trocknen im Vakuum (100°) 0,0310 g; 11,11 Proz. Wasser, berechnet 10,19 Proz.

Schmelzpunkt 185 bis 195°.

Mikroanalysen nach *Dumas-Pregl*:

11,777 mg im Vakuum getrocknet (105°) 0,880 ccm (korr.) N, 17,5°, 753 mm . . . . 8,70 Proz. N
9,502 mg im Vakuum getrocknet (105°) 0,669 ccm (korr.) N, 17°, 753 mm . . . . 8,21 „ N
10,699 mg im Vakuum getrocknet (105°) 0,776 ccm (korr.) N, 18,5°, 753 mm . . . . 8,42 „ N

Im Mittel . . . 8,45 Proz. N

Die Genauigkeit der Analysenresultate wurde jeden Tag durch Verbrennung von reinem Brucin kontrolliert, und es wurde z. B. vor und nach der letzten von diesen drei Analysen für Brucin 7,17 und 7,14 Proz. N (berechnet 7,11 Proz.) erhalten.

Phosphoranalysen nach *Pregl*:

2,77 mg im Vakuum getrocknet (105°) 5,23 mg Molybdat, Faktor 0,01439 . . . . 2,72 Proz. P
8,23 mg im Vakuum getrocknet (105°) 15,58 mg Molybdat, Faktor 0,01439 . . . . 2,73 „ P

Berechnet für das wasserfreie Dibrucinsalz der Cytosinpentosephosphorsäure 8,82 Proz. N, 2,79 Proz. P, N : P = 3,16.

Gefunden 8,45 Proz. N, 2,73 Proz. P, N : P = 3,10.

Trotz der kleinen Substanzmenge konnte das Brucinsalz in das Bleisalz umgewandelt werden. Die Substanz wurde in 10 ccm heißem 35proz. Alkohol gelöst und mit 0,5 ccm konzentriertem Ammoniak versetzt. Nach Abkühlen wurde fünfmal mit Chloroform ausgeschüttelt und dann Ammoniak, Chloroform und Alkohol durch Eindampfen im Vakuum entfernt. Die Flüssigkeit wurde mit Essigsäure angesäuert, erwärmt und mit einigen Kubikzentimetern warmer Bleiacetatlösung die Nucleinsäure gefällt. Der Niederschlag wurde zweimal mit Wasser gewaschen und mit Alkohol und Äther getrocknet. Ausbeute 17 mg.

6,945 mg (im Vakuum getrocknet) gaben 0,459 ccm (korrigiert) N bei 20° und 756 mm = 7,66 Proz. N.

Brucinanalysen vor und nach dieser Bestimmung gaben 7,09 und 7,22 Proz. N. Berechnet für reines Brucin 7,11 Proz.

5,177 mg (im Vakuum getrocknet) gaben 19,22 mg Molybdat. Faktor 0,01475 = 5,47 Proz. P.

Berechnet für das wasserfreie Bleisalz der Cytosinpentosephosphorsäure ($C_9H_{12}N_3PO_8Pb$) 7,95 Proz. N, 5,88 Proz. P, N : P = 1,35.

Gefunden 7,66 Proz. N, 5,47 Proz. P, N : P = 1,4.

Das Bleisalz des entsprechenden Hexosenucleotides (Molekulargewicht 588,46) soll nur 7,14 Proz. N und 5,27 Proz. P haben. Einzelne

Nucleotide aus der Thymonucleinsäure können jedoch hier nicht vorkommen, denn diese wird durch alkalische Hydrolyse nicht in einzelne Nucleotide aufgespaltet. Wenn jedoch Hefenucleinsäure frei oder in „zusammengesetzten“ Nucleinsäuren im Sinne *Feulgens* vorkommt, ist eine solche Aufspaltung teilweise schon bei der Präparation der Drüsen mit Alkali zu erwarten, und es muß wenigstens nach vollständiger Aufspaltung durch gelinde alkalische Hydrolyse möglich sein, die einzelnen Pentosenucleotide nachzuweisen. Der großen Löslichkeit wegen sind diese einzelnen Pentosenucleotide und ihre Salze jedoch sehr geeignet, der Ausfällung zu entgehen, besonders wenn man Schwermetallsalze vermeiden will. Nur als Brucinsalze sind sie, wie *Levene* und seine Mitarbeiter nachgewiesen haben, leicht ausfällbar und in reinem Zustande zu erhalten.

In dieser Arbeit ist darum das Hauptinteresse den leicht löslichen, am sichersten als Schwermetallsalze ausfällbaren Nucleinsäuren zugewendet worden. Es ist auch gelungen, thymonucleinsäurefreie Brucinsalze von Nucleinsäuren zu bekommen, aus denen in der beim Arbeiten mit Hefenucleinsäure üblichen Weise Brucinsalze dargestellt werden konnten, deren Löslichkeitsverhältnisse, Stickstoff- und Phosphorgehalt mit denen der beiden Pyrimidinpentosenucleotiden übereinstimmen. Von den dem zweistündigen Kochen mit 5proz. Mineralsäure widerstehenden Nucleinsäuren konnte ein Brucinsalz erhalten werden, welches achtmal aus 35proz. Alkohol umkristallisiert wurde. Im Niederschlage wurde dann der für uracilpentosephosphorsaures Brucin erwünschte Stickstoffgehalt gefunden und aus der Mutterlauge wurde ein Brucinsalz isoliert, das in dieser Hinsicht mit Cytosinpentosephosphorsäure übereinstimmte. Außer den genannten Pyrimidinnucleotiden, die beide aus dem schwer löslichen Brucinsalz nach Kochen mit 5proz. Schwefelsäure dargestellt wurden, konnte ein Brucinsalz der letzteren auch ohne saure Hydrolyse erhalten werden. Weil die Cytosinpentosephosphorsäure aus Hefenucleinsäure gewöhnlich zum Teil zusammen mit Adeninpentosephosphorsäure als Brucinsalz in der Mutterlauge gefunden wird, wurde sie hier auch in der Mutterlauge gesucht. Durch energische Umkristallisationen gelang es, das erwartete Brucinsalz zu finden und dasselbe auch in Bleisalz umzuwandeln.

Dies alles kann nicht auf Zufälligkeiten beruhen oder ein Spielen mit „undefinierbaren Zersetzungsprodukten der Thymonucleinsäure“ sein, sondern macht das Vorkommen von einem der Hefenucleinsäure nahestehenden Polynucleotid im Pankreas höchst wahrscheinlich, was schon früher[1]) von *E. Hammarsten* und *E. Jorpes* behauptet worden ist. Die Arbeit wird fortgesetzt.

---

[1]) l. c.

Der CO_2-Gehalt des Kapillarblutes und seine Bestimmung.

Von

F. Verzár und B. Vásárhelyi.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität in Debreczen.)

(Eingegangen am 29. Juli 1924.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die CO_2-Bestimmung im arteriellen Blute hat dadurch besonderes Interesse, daß sie eine gewisse Schätzung der fixen Säuren in diesem gestattet. Aus diesem sowie dem CO_2-Gehalt der Alveolarluft läßt sich auch die $H^{\cdot}$-Konzentration des Blutes bestimmen[1]). Von *Verzár* und *Keller*[2]) wurde früher gezeigt, daß das Kapillarblut der Fingerbeere sehr stark mit O_2 gesättigt ist, ohne daß es ganz arteriellem Blute entsprechen würde. Das war ohnehin wahrscheinlich, denn die Haut ist sehr stark durchblutet und hat dabei sicherlich keinen wesentlichen Stoffwechsel. Ihre starke Blutdurchströmung hat mehr eine thermoregulatorische Rolle. Dieses Blut dürfte also wahrscheinlich nur wenig ausgenutzt sein und nur wenig vom arteriellen abweichen.

Wenn seine Zusammensetzung konstant genug ist, dann könnte es das arterielle Blut vertreten als Maß des O_2- bzw. CO_2-Gehaltes von diesem. Das wäre aber eine große Erleichterung, denn sie würde diese Bestimmung allgemein zugänglich machen können, was die Untersuchung des arteriellen Blutes sonst nicht ist, da sie nur mittels Arterienpunktion möglich ist, durch einen Eingriff, der für die allgemeine klinische Praxis kaum geeignet sein dürfte, wenn er auch gelegentlich mit Erfolg angewendet wurde.

Unser Bestreben ging deshalb dahin, eine Basis für diese Bestimmungen zu schaffen, erstens durch Feststellung der Normalwerte, und zweitens durch Ausarbeiten einer einfachen Methodik der Blutentnahme und der Analyse. Hier berichten wir 1. über die normalen CO_2-Werte. Danach wird 2. die jetzt modifizierte Methodik beschrieben.

---

1) Siehe z. B. *B. Barcroft* u. a., Proc. Roy. Soc., Ser. B, **211**, 366, **1923**; Journ. of Physiol. **56**, 157, 1922.

2) *Verzár* und *Keller*, diese Zeitschr. **141**, 21, 1923.

die auch für die O_2-Analyse des Kapillarblutes geeignet ist, insbesondere 3. eine Modifikation des Blutgasapparates, die ihn für klinische Arbeiten noch einfacher gestaltet.

Lundsgaard[1]) hat Bestimmungen im sogenannten „Cutanblut" der Fingerbeere gemacht. Es wurden 4 cm lange Schnitte in der Haut gemacht. Dadurch wird leicht eine kleinere Arterie oder Vene verletzt sein, deren Blutzusammensetzung dann die Zusammensetzung des „Cutanblutes" beeinflussen wird. Ferner sind solche langen Schnitte ungeeignet, um einen unbedeutenden täglichen Eingriff zu rechtfertigen.

Wir haben deshalb unsere Blutentnahme mit der *Francke*schen Nadel gemacht. Der Einstich ist klein und gibt, in die Fingerspitze gemacht, konstante Werte, was am besten zeigt, daß nur Hautkapillaren getroffen werden.

Der CO_2-Gehalt des Kapillarblutes.

Unsere Bestimmungen sind an 35 jungen Studenten gemacht in insgesamt 41 Fällen. Sie sind in Tabelle I zusammengestellt.

Die Werte liegen zwischen 40,8 bis 62,3 Proz. Die aus der Reihe fallenden hohen Werte um 60 Proz. fanden wir nur in drei Fällen, während fast alle anderen ganz nahe um 50 Proz. liegen. Der Mittelwert aller Bestimmungen ist 49,8 Vol.-Proz. Im Vergleich zum arteriellen Blute und zum Cutanblut nach *Lundsgaard* sind diese Werte nicht höher. *Lundsgaard*[2]) hat auch Blutgasbestimmungen im venösen Blute der V. cubitalis publiziert, die einen CO_2-Gehalt zwischen 41,8 bis 57,6 Vol.-Proz., im Mittel 49,8 Vol.-Proz. CO_2 zeigen. Dieser ist zufällig genau derselbe wie im Kapillarblut. Im arteriellen Blute ist nach *Harrop*[3]) 44,6 bis 54,7 Proz., im venösen 48,3 bis 60,4 Proz. CO_2 vorhanden. Die Werte sind im Kapillarblut für ein und dieselbe Person ziemlich konstant. So gaben an zeitlich weit auseinander liegenden Tagen die Versuchsperson *G. G.* 50,33 und 46,82 Proz., *K. T. I.* 49,76 und 45,42 Proz., *P. B.* 51,67 und 50,22 Proz., *S. Z.* 47,87 und 48,72 Proz.

Die beiden höchsten und aus der Reihe herausfallenden Werte (9 und 11) sind bei diesen beiden Versuchspersonen konstant und wurden nach längerer Zeit wieder so gefunden. *S. F.* gab zuerst 62,2, später 58,0 Proz., *M. A.* 59,81 und 59,04 Vol.-Proz. CO_2. Bei diesen scheint also dieser hohe CO_2-Gehalt des Kapillarblutes konstitutionell zu sein. „Blaue Hände" hatten diese Personen nicht. Die eine hatte einen Catarrhus apicis und fieberte. Es würde sich lohnen, der Frage

[1]) *Lundsgaard*, Journ. exper. Med. **30**, 259, 271, 1919; nach Zentralbl. f. biochem. Biophysik **23**, 134.

[2]) *Ch. Lundsgaard* und *E. Möller*, Journ. of biol. Chem. **55**, 315, 1923.

[3]) *G. A. Harrop*, Zentralbl. f. biochem. Biophysik **23**; Journ. exper. Med. **30**, 241, 1919.

Tabelle I. Normalwerte.

Nr.	Versuchsperson	Alter Jahre	CO_2 Vol.-Proz.	Anmerkungen	
1	*K. T. I.*	23	49,76		
2	*K. T. I.*	23	45,42		
3	*S. Z.*	20	47,87		
4	*S. Z.*	20	48,72		
5	*P. B.*	20	51,67	Gesund	
6	*P. B.*	20	50,22		
7	*G. G.*	20	50,32		
8	*G. G.*	20	46,83		
9	*S. F.*	21	62,25		
10	*S. F.*	21	58,00		
11	*M. A.*	20	59,81	Cat. apicis. Fieber	
12	*M. A.*	20	59,04		
13	*M. Al.*	21	50,87		
14	*A. S.*	22	48,32		
15	*B. G.*	23	50,91		
16	*M. I.*	20	46,61		
17	*D. B.*	20	48,94		
18	*H. L.*	22	46,22		
19	*P. P.*	20	47,59		
20	*S. I.*	22	47,58		
21	*B. J.*	21	48,94		
22	*K. L.*	21	48,46		
23	*H. L.*	21	49,85		
24	*O. I.*	23	48,99	Gesund	
25	*B. L.*	20	51,25		
26	*T. L.*	20	53,08		
27	*S. L.*	20	51,25		
28	*G. M.*	21	50,18		
29	*C. L.*	22	46,35		
30	*K. G.*	22	41,97		
31	*G. L.*	20	57,24		
32	*Sz. N.*	20	50,03		
33	*P. G.*	20	54,92		
34	*H. B.*	22	49,49		
35	*D. I.*	21	40,81		90,0 Proz.
36	*M. E.*	21	49,16		86,9 "
37	*S. P.*	21	41,87		84,7 "
38	*L. T.*	20	45,22	Hämoglobin aus der	97,0 "
39	*K. Sz. M.*	28	50,12	O_2-Kapazität	108,2 "
40	*B. F.*	29	49,89		100,6 "
41	*D. A.*	36	46,02		100,7 "

auf klinischem Gebiete systematisch nachzugehen, was die Ursachen solcher Unterschiede sind.

Acht Versuchspersonen (Tabelle II) ließen wir Arbeit leisten, die darin bestand, daß die Person zwei Stockwerke hoch die Treppe hinauf- und hinunterlaufen mußte. Sogleich danach wurde das Kapillarblut untersucht. Dieses zeigt in allen Fällen eine Abnahme der CO_2 um 5,2 bis 35,5 Proz. Der niedrigste so gefundene Wert betrug 31,91 Vol.-Proz. (*H. B.*). Diese Abnahme des Blut-CO_2 ist bekannt.

Tabelle II. Arbeitsversuche.

Nr.	Versuchsperson	CO_2. Vol.-Proz.		Abnahme, Prozente des Ruhewertes
		in der Ruhe	2 bis 3 Min. nach Laufen	
17b	*S. F.*	58,00	46,14	20,4
21b	*B. I.*	48,94	43,50	11,1
22b	*K. L.*	48,46	39,42	18,7
26b	*T. L.*	53,08	44,26	16,6
29b	*C. L.*	46,35	43,93	5,2
30b	*K. G.*	41,97	34,17	18,5
33b	*P. G.*	54,92	47,42	13,7
34b	*H. B.*	49,49	31,91	35,5

Der CO_2-Gehalt des Kapillarblutes der Fingerbeere beträgt also im Durchschnitt und bei weitaus den meisten Personen 50 Vol.-Proz. Ausnahmsweise kommen Fälle bis 62 und 41 Vol.-Proz. vor. Unter und über diesem Werte sind keine Beobachtungen gemacht worden. Die klinische Verwertbarkeit dieser Befunde muß die Erfahrung zeigen. Es wäre besonders wichtig zu bestimmen, ob leichte Grade von Acidose schon Werte unterhalb 40 Proz. geben.

Die Bestimmung des CO_2-Gehaltes hat besonders mit der Schwierigkeit zu kämpfen, daß das Blut aus der Fingerbeere ohne Gasverlust aufgefangen werden muß. Das geschieht nach der sogleich zu beschreibenden Methode. Die Bestimmung des Gasgehaltes kann dann mit dem *Barcroft*schen Differentialapparat ausgeführt werden (oder mit dem *van Slyke*schen oder *Haldane*schen Apparat). Wir haben am Barcroftapparat eine Modifikation gemacht, um rasches und leichtes Arbeiten zu ermöglichen.

Der Gasanalysenapparat.

Der Apparat, den wir zur Gasanalyse verwenden, ist ein modifizierter Differentialapparat von *Barcroft*. Das Arbeiten mit dem Differentialapparat ist genügend bekannt, so daß es nicht nötig ist, darauf näher einzugehen. Unsere Modifikation besteht darin, daß wir *jede Berechnung überflüssig gemacht haben*, so daß der Apparat sogleich ohne Umrechnung absolute Werte gibt. Nach dem Prinzip des Kompensationsapparates gibt man bekanntlich in beide Gefäße genau die gleiche Flüssigkeitsmenge. Wird nun in einem Gas entwickelt oder Gas verbraucht, so entsteht im Manometer eine Druckdifferenz, aus welcher sich das Gasvolumen berechnen läßt. Zu dieser Berechnung braucht man nun einen „Faktor". Dieser wird derzeit meist nach dem Prinzip von *Hoffmann* so gewonnen, daß man aus einer Pipette, die mit einem Niveaurohr verbunden ist, eine genau bestimmte Gasmenge in dasselbe Gefäß durch den oberen Hahn des Differentialapparates hineindrückt. Man bestimmt dann die Druckdifferenz, die durch die Volumenzunahme entsteht. Das Verhältnis der beiden Werte ist der „Faktor", der zur Umrechnung benutzt wird. Dieser Wert ändert sich aber, wenn man andere Volumina benutzt, also wenn man mit verschiedenen Flüssigkeitsmengen oder verschiedenen Gefäßen

arbeitet. Die Bestimmung des Faktors verlangt sehr genaues Arbeiten und beschränkt den Gebrauch des Apparates auf das Speziallaboratorium.

Unsere Modifikation besteht nun darin, daß wir die eine Seite des Kompensationsapparates mittels eines └-gebohrten Vierwegehahns mit einer Pipette von 0,3 ccm verbunden haben, in welche aus einem mit ihr U-förmig verbundenen Rohr, das oben abgeschlossen ist, Öl hineingepreßt wird, bis die Niveaudifferenz im Kompensationsmanometer wieder ausgeglichen ist. Es ist dasselbe Prinzip, nach dem wir die Kompensationsmanometer kalibrieren bzw. den Faktor zu bestimmen pflegen. (Nach ähnlichen Prinzipien ist auch der Apparat von *Thunberg*, *Winterstein* und von *Haldane* gebaut.)

Das Eintreiben des Öles aus der Pipette geschieht mit Hilfe der rechts angebrachten Schraube, die das Gummirohr zusammenpreßt. Mit der linken Schraube kann man — so wie das beim Arbeiten mit dem Kompensationsmanometer üblich ist — das Niveau des Öles im Differentialmanometer so einstellen, wie es am praktischsten ist. Das Ablesen der drei Skalen geschieht mit Hilfe eines Spiegels. Die Pipette rechts ist unten und oben mittels Gummischlauch mit dem anderen Teil des Apparates verbunden und herausnehmbar Sie muß genau kalibriert geliefert werden und hat ein Volumen von 0,3 ccm, und erlaubt eine Ablesung von 0,001 ccm. Man hat immer die Möglichkeit, die Pipette nachzukalibrieren. Die von uns benutzte hatte einen Faktor von 0,980.

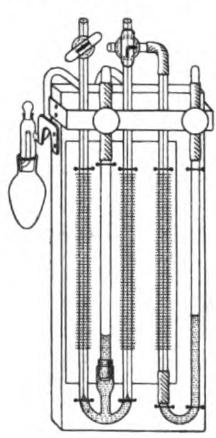


Abb. 1.

Prinzipiell wichtig ist bei diesem Apparat, ebenso wie es für den Differentialapparat von *Barcroft* überhaupt gilt, daß die beiden Aufnahmegefäße sehr präzise gleich gearbeitet sind und ein vollständig gleiches Volumen haben. Das ist Sache des Fabrikanten. *Wertheimer*[1]) hat hierauf besonders aufmerksam gemacht und ergänzt die Volumendifferenz der Gefäße durch Einlegen von Ebonitstückchen. Wichtig ist ferner die präzise Konstruktion des Hahnes rechts. Als Füllungsflüssigkeit haben wir so wie *Barcroft* Nelkenöl benutzt.

Man arbeitet mit dem Apparat auf folgende Weise: Der rechte Hahn steht zuerst so └. In dieser Lage erlaubt er ein Einstellen des Pipettenniveaus bei Luftdruck, was vor jeder Analyse geschieht. Dann wird er ┐ so gedreht und nun das Differentialmanometer bei Luftdruck eingestellt, indem gleichzeitig auch der linke Hahn offen ist. Wenn nach 5 Minuten im Wasserbade ein Temperaturausgleich eingetreten ist, so wird der linke Hahn zugedreht und der rechte so ∧ gestellt, daß er in keiner Richtung geöffnet ist. Differentialmanometer und Pipette sind nun abgeschlossen. Dann werden alle drei Skalen abgelesen und die Analysen durch Schütteln bzw. Hinzulassen der nötigen Flüssigkeit — in bekannter Weise — gemacht. Nun gibt das Diffenrentialmanometer eine Druckdifferenz an. Man dreht den Hahn nun so ┌, daß Differentialmanometer und Pipette miteinander verbunden sind, und dreht dann an der rechten Schraube so lange, bis im Differentialmanometer keine Druckdifferenz (bzw., wenn eventuell am Anfang eine solche von 0,5 bis 1 mm war, wieder dieselbe) vorhanden ist. Nun wird an der Pipette das Gasvolumen direkt abgelesen.

---

[1]) *Wertheimer*, diese Zeitschr. **106**, 1, 1920.

Erwartet man eine *Gasbildung*, so ist das Ölniveau am Anfang des Versuchs auf den oberen Teil und umgekehrt, wenn *Gasverbrauch* erwartet wird, auf den unteren Teil der Skala einzustellen. Man kann mit diesem Apparat — wenn nötig — auch Gasvolumina bestimmen, die größer sind als der Pipettenskala entspricht. Das kann der Fall sein z. B. bei CO_2-Bestimmungen, wenn man — was nicht erwünscht ist — eine größere Blutmenge genommen hat, als 300 cmm CO_2 entspricht. Nachdem man dann zuerst so viel Luft ausgetrieben hat, bis das Öl in der Pipette bis zum unteren Skalenrand reicht, stellt man den Hahn └ so, hebt das Öl in der Pipette wieder bis zum oberen Skalenrand, stellt den Hahn wieder ┌ und treibt nun noch einmal Gas aus bzw. wiederholt das so oft, bis das Differentialmanometer keine Druckdifferenz zeigt.

Der Apparat ist ebenso montiert wie der Differentialapparat von *Barcroft* und ist kaum größer als dieser. Sein Vorteil ist, daß er keine Bestimmung eines Faktors und keine Berechnungen verlangt, sondern, daß er ein sofortiges direktes Ablesen des Gasvolumens erlaubt. Er macht uns deshalb auch unabhängig von der verwendeten Blut- und Reagenzienmenge. Bedingung ist nur, daß in das Kompensationsgefäß genau so viel Flüssigkeit (Wasser oder Reagenz) kommt, daß die Volumina auf beiden Seiten gleich sind. Ferner muß die zu untersuchende Substanz *immer* in das rechte Gefäß gebracht werden. Das linke dient nur zur Kompensation. Das Arbeiten mit diesem Apparat ist äußerst einfach und die Analyse dauert nur wenige Minuten und macht ihn deshalb besonders für klinisches Arbeiten geeignet. Seine Anwendbarkeit zu speziellen klinischen Aufgaben soll anderen Orts besprochen werden.

Wir haben das präzise Arbeiten des Apparates so kontrolliert, daß wir den Apparat zuerst als gewöhnliches Differentialmanometer benutzten, indem die Analyse bei geschlossenem Differentialmanometer ausgeführt wurde. Aus der Niveaudifferenz des Differentialmanometers und dem nach *Hoffmann-Münzer-Neumann* bestimmten Faktor wurde dann das Gasvolumen berechnet. Dann wurde der Hahn so gedreht, daß die Verbindung mit der Pipette hergestellt war, und nun das Volumen direkt bestimmt. Die Werte zeigen eine weitgehende Übereinstimmung[1]).

Als Beispiel für die Genauigkeit, mit welcher man arbeiten kann, dienen die folgenden drei Analysen aus dem Kapillarblut des Fingers:

Die Blutentnahme.

Die Entnahme des Kapillarblutes zur CO_2-Bestimmung geschieht mit der in Abb. 2 abgebildeten Trichterpipette. Diese wird zuerst bis oben mit Hg gefüllt. Dann kommt in den Trichter 2 ccm der von uns früher angegebenen NaOH-Saponincitratlösung[2]) oder so viel als nötig befunden wird, genau mit Pipette abgemessen. Dann schichtet man darüber etwa 1 ccm Paraffinöl.

---

[1]) Ein Fehler des Apparates wird durch die Luftsäule vom └ Hahn bis zum Ölniveau in der Pipette bedingt, wodurch das Volumen auf dieser Seite etwas größer ausfällt. Der Fehler wird durch Anwendung eines Kapillarrohres als Verbindungsstück auf ein Minimum reduziert.

[2]) Siehe *Verzár* und *Gara*, Pflügers Arch. **183**, 255, 1920, sowie *Verzár* und *Keller*, l. c.

Der Finger wird mit Äther abgewaschen, mit einer Frankenadel die Fingerkuppe verletzt und sofort unter das Öl in die Lösung getaucht. Dabei soll der Arm abwärts hängen und nicht wagerecht gehalten werden. Man kann das Blut mit einem Glasstäbchen vorsichtig mit der Lösung vermischen, damit es gut hämolysiert und nicht sedimentiert. Man läßt im allgemeinen etwa 0,3 bis 0,6 ccm Blut zufließen. Öffnet dann zuerst den oberen Hahn und dann vorsichtig den unteren und läßt das Hg so lange abfließen, bis die ganze wässerige Lösung zwischen Hg- und Paraffinöl-Meniskus in die Skala fällt. Diese entspricht 4 ccm und ist in 0,05 ccm eingeteilt, läßt aber noch 0,01 ccm schätzen. Man bestimmt dann die Quantität der Flüssigkeit zwischen den beiden Menisken und zieht davon 2 ccm, entsprechend der hinzugesetzten Lösung, ab. Die Differenz gibt die Blutmenge, die aus dem Finger geflossen ist. Man läßt dann vorsichtig das Hg abfließen, bis die Blutlösung am Ende der Pipette erscheint. Dann nimmt man einen Rezipienten des Gasanalysenapparates, gibt in diesen 1 bis 2 ccm (genau gemessen) Saponinlösung und schichtet unter diese die Blutlösung indem man so lange zufließen läßt, bis das Paraffinöl an der Öffnung erscheint. Man weiß dann genau, wieviel Flüssigkeit man in dem Rezipienten der einen Seite hat und muß auf die andere Seite dann genau soviel Wasser und Saponinlösung geben, damit der Apparat richtig nach dem Kompensationsprinzip funktioniert.

Abb. 2.

Die Bestimmung des CO_2-Gehaltes.

Diese geschieht nach dem bekannten Prinzip, wie es mit dem *Barcroft*-Apparat angewendet wird. Das Blut muß zuerst mit Ferricyankalium in Methämoglobin umgewandelt werden. Dann läßt man Acid. tartaricum zufließen und bestimmt die Volumenzunahme. Gleichzeitig Ablesen von Barometer und Temperatur des Wasserbades und dann Umrechnen des erhaltenen Wertes auf 0° und 760 mm Hg mit Hilfe einer entsprechenden Tabelle[1]).

Tabelle III.

Nr.	Blutmenge	O_2-Aufnahme		Totale O_2-Kapazität		CO_2-Gehalt	
		Differentialapparat	Modifiziert. Apparat	Differentialapparat	Modifiziert. Apparat	Differentialapparat	Modifiziert. Apparat
7	0,6	14,4	14,3	137,3	137,2	344,6	342,2
8	0,6	19,2	19,6	126,9	125,5	337,4	335,2
9	0,5	14,5	15,6	105,6	104,9	259,2	257,8

Anmerkung: Alle Werte in Kubikmillimetern, nicht reduziert.

Wir bemerken, daß es wichtig ist, die Saponin-NaOH-Lösung unter Luftabschluß zu halten, damit keine CO_2 gebunden wird, und daß die Lösungen mit ausgekochtem Wasser gemacht werden. Die Lösung enthält trotzdem immer etwas gebundene CO_2. Das kann natürlich bei der Bestimmung der CO_2 im Blute sehr stören, wir haben deshalb entweder den CO_2-Gehalt in besonderem Blindversuch bestimmt und in Abzug gebracht, oder wir brachten in das Kompensationsgefäß genau

[1]) Siehe Klin. Wochenschr. 1924.

soviel Saponinlösung und fügten zu dieser ebensoviel Acid. tartaricum bei. Der CO_2-Fehler war dann auf beiden Seiten vorhanden und kompensierte sich.

Zusammenfassung.

1. Der CO_2-Gehalt des Kapillarblutes aus der Fingerbeere beträgt 50 Vol.-Proz. Ausnahmsweise kommen Werte von 40,8 bis 62,3 Proz. vor.

2. Nach Treppenlaufen sinkt der CO_2-Gehalt sehr bedeutend bis um 35,5 Proz.

3. Es wird eine Modifikation des *Barcroft*schen Differentialapparates beschrieben, mit welchem ohne Faktorberechnung direkt absolute Werte zu erhalten sind.

4. Ferner wird die spezielle Methodik zum Auffangen und Analysieren des Kapillarblutes ohne Gasverlust beschrieben.

Weitere Untersuchungen über die Stoffwechselregulierung bei B. coli comm. III.

Von

F. Verzár und A. Zih.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Debreczen.)

(Eingegangen am 29. Juli 1924.)

Mit 7 Abbildungen im Text.

In früheren Untersuchungen[1]) wurde die Säurebildung von B. coli comm. untersucht. Dabei waren wir unter anderem zu dem Befunde gelangt, daß verschiedene Giftsubstanzen so wirken, daß sie die obere Grenze der Säurebildung, die für B. coli comm. typisch ist, herabsetzen. Dies wurde sowohl für Äthyl- als auch für Methylalkohol und Formaldehyd gezeigt. Zweierlei ist möglich: 1. Entweder hemmen diese Gifte den Stoffwechsel so, daß es zu keiner so hohen Acidität kommen kann wie normalerweise. In diesem Falle bestände die Giftwirkung darin, daß sie sich zu der Hemmungswirkung der Säure, des Stoffwechselproduktes hinzuaddiert, und deshalb die Stoffwechsellähmung schon bei einer weit niedrigeren Acidität eintritt, als welche normalerweise zu einer Hemmung des Stoffwechsels führt. Oder könnte 2. die Wirkung der Gifte darin bestehen, daß sie die Vermehrung der Bakterien hemmen und es deshalb zu keiner solchen Acidität kommt wie normal, weil die Anzahl der Bakterien zu gering ist, um dem Säuremaximum entsprechend genug Säure zu bilden.

Um zwischen diesen beiden Möglichkeiten zu entscheiden, wurden die folgenden Versuche unternommen.

Unsere Methodik war dabei genau dieselbe, wie bei unseren früheren Versuchen: Züchtung von B. coli comm. in je 100 ccm 1proz. Traubenzuckerbouillon bei 37° C. Titration der Acidität mit n/10 NaOH und Bestimmung der H'-Konzentration mit der kolorimetrischen Methode von *Michaelis*. Hierzu wurden je 2 ccm Bouillonkultur mit 18 ccm destillierten Wassers verdünnt. Die Gifte setzten wir zur Bouillon und zu der Kontrolle kam ebensoviel destilliertes Wasser. Die Zählung der Keime wurde so ausgeführt, daß tausend- und millionenfache Verdünnungen der Kultur hergestellt und davon je eine Platte mit Endoagar ausgegossen wurde. Die Resultate sind graphisch registriert.

---

[1]) *Verzár*, diese Zeitschr. **91**, 1, 1918; *Verzár* und *Bögel*, ebendaselbst **108**, 207, 1920; *Verzár*, *Nábráczky* und *Szányi*, ebendaselbst **141**, 13. 1923.

Die Wirkung von Giften auf den Endwert der H-Ionenkonzentration.

In der ersten Versuchsreihe prüften wir die Wirkung von einigen Giften auf den Endwert der H-Ionenkonzentration, die die Kulturen in 1proz. Traubenzuckerbouillon erreichen. In unseren früheren Versuchen hatten wir diesen Endwert nur mit Titration bestimmt.

Äthylalkohol.

Von fünf übereinstimmenden Versuchen ist der folgende ein Beispiel. Abb. 1 zeigt die erreichten p_H-Werte, Abb. 2 die durch Titration ermittelten Säurewerte.

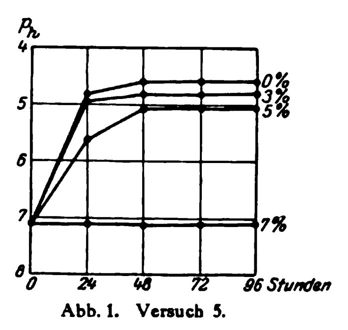


Abb. 1. Versuch 5.

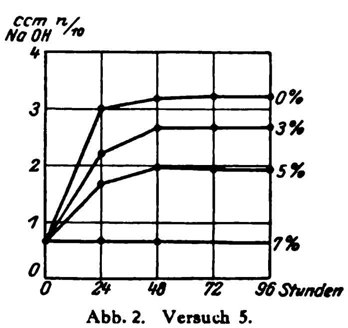


Abb. 2. Versuch 5.

Versuch 5. B. coli comm., Stamm 5, 1proz. Traubenzuckerbouillon. Am Anfang p_H = 7,2, titrierte Acidität = 0,52 ccm n/10 NaOH.

Säuremaximum ohne Alkohol bei . . . . p_H = 4,60
,, mit 4proz. Äthylalkohol bei . . . . p_H = 4,75
,, ,, 6 ,, ,, ,, ... p_H = 5,31
,, ,, 8 ,, ,, ,, ... p_H = 7,20

Methylalkohol.

Von drei übereinstimmenden Versuchen ist der folgende ein Beispiel (Abb. 3 und 4).

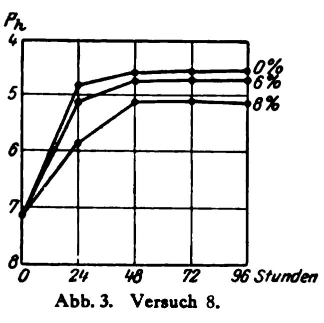


Abb. 3. Versuch 8.

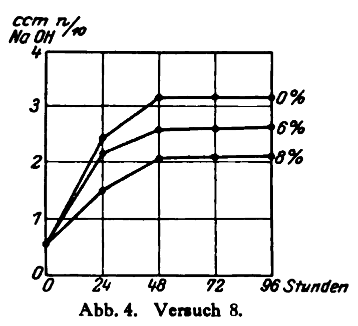


Abb. 4. Versuch 8.

Versuch 8. B. coli comm., Stamm 5, 1proz. Traubenzuckerbouillon. Am Anfang p_H = 7,2, titrierte Acidität 0,32 ccm n/10 NaOH.

Säuremaximum ohne Alkohol bei . . . . p_H = 4,60
,, mit 6proz. Methylalkohol bei . . . p_H = 4,73
,, ,, 8 ,, ,, ,, . . . p_H = 5,18

Formaldehyd.

Von zwei Versuchsreihen sei die folgende angeführt (Abb. 5 und 6).

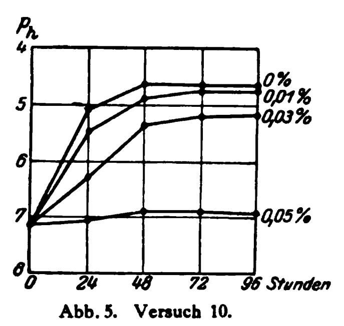


Abb. 5. Versuch 10.

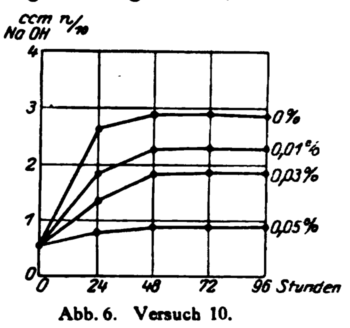


Abb. 6. Versuch 10.

Versuch 10. B. coli comm., Stamm 5, 1proz. Traubenzuckerbouillon. Am Anfang p_H = 7,16, titrierte Acidität 0,56 ccm n/10 NaOH pro 10 ccm.

Säuremaximum ohne Formaldehyd bei . . . . . . p_H = 4,64
„ mit 0,01proz. Formaldehyd bei . . p_H = 4,72
„ „ 0,03 „ „ „ . . p_H = 5,32
„ „ 0,05 „ „ „ . . p_H = 6,68

Mit allen drei Giften bleibt also die Säurebildung bei einer um so geringeren H-Ionenkonzentration stehen, je größer die Giftkonzentration ist. Dieses Maximum stellt sich nach 48 Stunden ein. Methylalkohol erweist sich auch hier als schwächeres Gift als Äthylalkohol.

Gleichzeitige Bestimmung von Keimzahl und H˙-Konzentration.

Es war nun zu untersuchen, wie sich die Zahl der Bakterien unter dem Einfluß dieser Giftkonzentrationen ändert. Als Beispiel diene Versuch 11 mit Äthylalkohol.

Das Säuremaximum ist ohne Alkohol in 3- u. 5proz. Äthylalkohol nach 48 Stunden erreicht. In 7proz. findet überhaupt keine Säurebildung statt.

Die Zahl der Bakterien nimmt in den ersten 24 Stunden ohne Alkohol auf das mehr als 1000000fache zu, um dann abzunehmen und am vierten Tage ganz abzusterben. Mit 3proz. Äthylalkohol ist die Zunahme nur etwa 40000fach, mit 5proz. Äthylalkohol sehr verspätet nach 48 Stunden nur etwa 13fach. In 7proz. Alkohol sterben die Bakterien von Anfang an ab. Das Absterben dauert in schwächeren Lösungen etwa 4 Tage, ebenso wie ohne Alkohol.

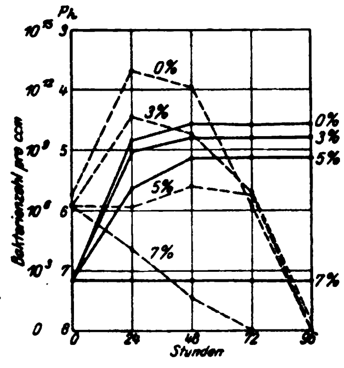


Abb. 7. Versuch 11.
——— p_H – – – Zahl der Bakterien.

Demnach ist die Ursache dafür, daß nach 24 bis 48 Stunden die Säurebildung aufhört, daß die Vermehrung der Bakterien aufhört. Die Ursache

dafür, daß in Giftlösungen weniger Säure gebildet wird, ist nun, daß *diese Gifte das Bakterienwachstum hemmen*. Je stärker diese Hemmung ist, desto geringer wird die gebildete Säuremenge sein. Es ist zwar nicht möglich zu entscheiden, ob hier primär der Säurebildungsprozeß oder die Vermehrung der Bakterien gehemmt wird; doch ist so viel klar, daß die Vermehrung der Bakterien und die Säurebildung derartig gekoppelt sind, daß beide zusammen gehemmt werden.

Der Endwert der H'-Ionenkonzentration.

In unseren jetzigen Versuchen war die H'-Konzentration, bei der die weitere Säurebildung stehenblieb, geringer als in unseren früheren Versuchen. Während damals die Säurebildung von allen untersuchten Stämmen genau bei p_H 4,08 stehenblieb, finden wir jetzt höhere Werte. Wir haben damals eine Bouillon für die ganze Versuchsserie verwendet, und es scheint uns wahrscheinlich, daß darin die Konstanz unserer früheren Befunde zu suchen ist. Nach unseren gegenwärtigen Befunden blieb die Säurebildung im Mittel von zehn Versuchen bei p_H 4,65 (in einem Falle bei p_H 4,77 und einem bei p_H 4,38), während die anderen bis auf $\pm$0,05 hiermit zusammenfallen.

Unsere Bestimmungen der H'-Konzentration wurden immer an Pufferlösungen kontrolliert, die wieder nach *Kolthoff* und elektrometrisch eingestellt waren. Wir müssen also, ohne eine erschöpfende Erklärung hierfür geben zu können, nur mitteilen, daß dieselben sowie andere Stämme, die vor mehr als einem Jahr Säure bis p_H 4,08 entwickelten, jetzt bei p_H 4,60 schon aufhören, weiter Säure zu bilden. Sonst wachsen die Stämme gut und wurden immer nur in wiederholt frisch überimpftem Zustand verwendet.

Die Ursache des verschiedenartigen Säuremaximums dürfte in der Nährbouillon zu suchen sein. Wir haben auf diese Möglichkeit schon früher verwiesen[1]). In weiteren Versuchen wurde deshalb versucht, in die Bedingungen, die hier eine Rolle spielen könnten, einen Einblick zu bekommen.

Versuch 14. In 1proz. Traubenzuckerbouillon gab der Stamm 5 nach 96 Stunden die folgenden Endwerte: p_H 4,70, 4,69, 4,65, 4,64.

Versuch 15. In einem anderen Versuch nach 4 Tagen Stamm 5 p_H 4,62, Stamm 2 p_H 4,64, Stamm 3 p_H 4,60.

Versuch 16. In 3proz. Traubenzuckerbouillon dieselben drei Stämme am vierten Tage: Stamm 5 p_H 4,55, Stamm 2 p_H 4,56, Stamm 3 p_H 4,7 (4,58).

Versuch 17. In 3proz. Traubenzuckerbouillon, die die vierfache Menge Pepton (also 4 Proz.) enthielt, erreichte am dritten Tage Stamm 5 p_H 4,58, Stamm 2 p_H 4,60.

Zur gleichen Zeit beide Stämme zur Kontrolle in gewöhnlicher 1proz. Traubenzuckerbouillon untersucht, Stamm 5 p_H 4,60, Stamm 2 p_H 4,60.

Versuch 18. Endlich wurde die Nährbouillon auf die Hälfte einkonzentriert und mit 3proz. Traubenzucker versetzt. Dabei dachten wir daran,

[1]) Diese Zeitschr. **141**, 19, 1923.

daß eventuell die Konzentration der anderen Bouillonbestandteile, der undefinierten Extraktionsstoffe, von Einfluß auf die Säurebildung sein kann.

Stamm 5 erreichte am dritten Tage p_H 4,55, Stamm 3 p_H 4,60. Zur gleichen Zeit die Kontrollen in gewöhnlicher 3proz. Traubenzuckerbouillon: Stamm 5 p_H 4,55 und Stamm 2 p_H 4,60.

Diese Versuche zeigen also nur, daß Zucker, Pepton und Bouillonkonzentration den Endwert der Acidität, bei welchem die weitere Säurebildung stehenbleibt, unbeeinflußt lassen. Der Faktor, der gelegentlich dennoch zu einer anderen Säurebildung geführt hat, blieb unaufgedeckt.

Das Resultat dieser Versuche ist das folgende:

1. Die Säurebildung von B. coli comm. wird durch Äthyl- und Methylalkohol sowie Formaldehyd gehemmt, so daß der Endwert der $H^{\cdot}$-Konzentration, den die Kulturen nach 2 bis 3 Tagen erreichen, um so niedriger ist, je mehr Gift zur Nährlösung hinzugesetzt wird.

2. Die Ursache für diese Verminderung der Aciditätsgrenze ist, daß diese Gifte die Vermehrung der Bakterien hemmen. Dadurch, daß es zu keiner solchen Zunahme der Keime kommt, wird auch die Menge der gebildeten Säure geringer.

3. Eine direkte primäre Beeinflussung des Säurebildungsprozesses durch die Gifte ist demnach nicht nachzuweisen. Vermehrung und Säurebildung sind so gekoppelt, daß beide zusammen beeinflußt werden.

4. Die $H^{\cdot}$-Konzentration, bis zu welcher B. coli comm. Säure bildet, war in diesen Versuchen rund $p_H = 4{,}65$. Dieser Wert ist höher als der in einer früheren Mitteilung gefundene. Die Differenz könnte auf unbekannten Verschiedenheiten des Nährbodens beruhen. Der Zucker-, Pepton- und Extraktivstoffgehalt der Nährbouillon erklärt diese Differenz nicht.

Über Auxoureasen.

Der Mechanismus der Kalkwirkung.

Von

Rudolf Kochmann.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 30. Juli 1924.)

Hosokawa[1]) hat im hiesigen Laboratorium gefunden, daß Zusatz von Calcium und Strontium die Ureasewirkung steigert. In dieser Untersuchung wird versucht, in den Mechanismus der Calciumwirkung tiefer einzudringen.

Es wurde dieselbe Methodik angewandt, wie in den früheren Arbeiten des Laboratoriums. In jeden Kolben kamen 0,3 ccm Olivenöl zum Vermeiden des Schäumens und 1,0 ccm Toluol als Antiseptikum. Die Harnstofflösung war immer 2proz., stets wurden je 20 ccm verwandt. Die benutzten Salzlösungen waren 1proz. Als Ferment kam Arlco-Urease aus Jackbohnen zur Verwendung, nur in einem Falle wurde Sojaurease benutzt. Die in jedem Falle angewandte Fermentmenge wird immer besonders vermerkt.

Ferment und Harnstoff wurden, wenn nicht anders angegeben, in *Soerensen*scher Phosphatmischung gelöst (9,078 g primäres Kaliumphosphat auf 1000 ccm Wasser, 11,876 g sekundäres Natriumphosphat auf 1000 ccm Wasser — gemischt werden 350 ccm der Kaliumphosphatlösung mit 650 ccm der Natriumphosphatlösung. p_H des Gemisches nach der Indikatorenmethode: 7,2).

Die Kolben wurden nach dem Fermentzusatz sofort geschlossen und für etwa 22 Stunden (in einigen Versuchen für 46 Stunden) im Brutschrank gelassen. Darauf folgte die übliche Wasserdampfdestillation von 25 Minuten Dauer. Das überdestillierte Ammoniak wurde in n/10 H_2SO_4 aufgefangen, die Kohlensäure durch Kochen entfernt und schließlich die verbrauchte Säure durch Titration ermittelt.

Versuch 1 (46 Stunden Brutschrank).

	20,0 Harnstoff	10,0 Ferment	(0,04 proz.)	17,15	16,95	18,95	16,95
2,0 NaCl	„	10,0 „	(0,04 „)	18,4	19,9		
2,0 KCl	„	10,0 „	(0,04 „)	19,85	19,2		
2,0 $CaCl_2$	„	10,0 „	(0,04 „)	41,2	39,8		

[1]) Diese Zeitschr. 149, 363, 1924.

Versuch 2.

2 H_2O	20 U^+	nach	10	Minuten	10,0	Ferment	(0,04	proz.)	13,2	12,7
2 NaCl	20 U^+	„	10	„	10,0	„	(0,04	„)	12,6	13,5
2 KCl	20 U^+	„	10	„	10,0	„	(0,04	„)	13,35	12,55
2 $CaCl_2$	20 U^+	„	10	„	10,0	„	(0,04	„)	34,3	32,4

Calcium hat also einen deutlich steigernden Einfluß auf die Ureasewirkung, wie das auch *Hosokawa* gefunden hatte. Die Prüfung der Frage, ob Natrium oder Kalium diese Calciumwirkung hemmen, wurde in folgenden Untersuchungen vorgenommen:

Versuch 3.

2 $CaCl_2$	10,0	Ferment	nach	5	Minuten	2,0 NaCl	20 U^+	41,2	40,7
2 $CaCl_2$	10,0	„	„	5	„	2,0 KCl	20 U^+	41,95	40,9
2 KCl	10,0	„	„	5	„	2,0 NaCl	20 U^+	22,7	23,5

Versuch 4.

2 $CaCl_2$	2 NaCl	10	Ferment	20 U^+	30,6	28,5
2 $CaCl_2$	2 KCl	10	„	20 U^+	31,2	29,8
2 KCl	2 NaCl	10	„	20 U^+	16,1	15,5

Aus dem Vergleich der Versuche 1 und 2 mit den Versuchen 3 und 4 geht hervor, daß die Calciumwirkung in dieser Versuchsanordnung durch andere Salze nicht beeinflußt wird. Da aus den Versuchen von *Hosokawa* bereits zu ersehen war, daß die Reihenfolge, in der die wirksamen Agenzien miteinander gemischt werden, von großer Bedeutung ist, war es nunmehr notwendig, zunächst eindeutig zu prüfen, ob die Auxowirkung des Calciums am Ferment oder am Harnstoff angreift.

Versuch 5.

2 $CaCl_2$	2 KCl	10 Ferment	nach	10	Minuten	20 U^+	31,4	30,15
2 $CaCl_2$	2 KCl	20 U^+	„	10	„	10 Ferment	34,3	33,9
2 $CaCl_2$		10 Ferment	„	10	„	20 U^+	33,55	27,1
2 $CaCl_2$		20 U^+	„	10	„	10 Ferment	32,6	32,1

Klarer fiel die Wiederholung dieses Versuches in gleicher Anordnung aus:

Versuch 6.

2 $CaCl_2$	2 KCl	10 Ferment	nach	10	Minuten	20 U^+	28,35	29,05
2 $CaCl_2$	2 KCl	20 U^+	„	10	„	10 Ferment	32,8	36,0
2 $CaCl_2$		10 Ferment	„	10	„	20 U^+	29,1	28,45
2 $CaCl_2$		20 U^+	„	10	„	10 Ferment	32,5	34,0

Wir beobachteten also einige Unregelmäßigkeiten in den Kontrollen. Das ist anscheinend bei dieser besonders empfindlichen Versuchsanordnung nicht immer zu vermeiden. Jedenfalls haben wir überall verstärkte Harnstoffspaltung, die stärkste aber da, wo das Calcium zuerst auf den Harnstoff einwirken konnte. Zunächst können wir uns mit diesen Versuchen begnügen, da sie zu den Beobachtungen *Hosokawas* mit Strontium in Übereinstimmung stehen und auch im weiteren Verlaufe unserer Untersuchungen gestützt werden.

Man darf sich aber nicht mit *einer* Annahme für die Erklärung für Auxowirkungen begnügen, sondern muß mit verschiedenen Angriffspunkten rechnen. So haben wir weiter geprüft, ob Calcium dem Ferment gegenüber eine Schutzwirkung ausübt. Das gelöste Ferment verliert allmählich seine Wirkung. Es wäre nun denkbar, daß die Calciumwirkung sich auch in einem Schutz des Ferments gegen die Zerstörung geltend macht. Folgende Versuche dienen zur Prüfung dieser Frage:

Versuch 7.

1. $2\ CaCl_2$	10	Ferment	20 U^+ 24 Std. Brutschrank		94,75	92,2
2. $2\ CaCl_2$	10	„	24 Std. Brutschrank, dann zugesetzt	$2\ H_2O$ 20 U^+	82,55	verunglückt
3. $2\ H_2O$	10	„		$2\ CaCl_2$ 20 U^+	75,3	76,6
4. $2\ H_2O$	10	„		$2\ H_2O$ 20 U^+	18,6	26,0

In diesem Versuche wurde eine Sojaurease in 0,3proz. Lösung verwandt. 2. bis 4. liefen insgesamt 46 Stunden. Die Schutzwirkung des Calciums (2.) ist sehr deutlich gegenüber 4., wird aber von 3., wo der Versuch im ersten Stadium ohne Calcium ist, fast eingeholt. Ob hier nur der Fermentrest geschützt wird oder ob es sich um andere Auxowirkungen handelt, läßt sich durch diesen Versuch noch nicht entscheiden.

Der Versuch wurde mit einem frisch eingetroffenen Jackbohnenferment (Arlco-Urease) wiederholt (Fermentlösung 0,04proz.).

Versuch 8.

$2\ CaCl_2$	10	Ferment	24 Std. Brutschrank, dann zugesetzt	$2\ H_2O$ 20 U^+	17,4	17,7
$2\ H_2O$	10	„		$2\ CaCl_2$ 20 U^+	4,35	4,0
$2\ H_2O$	10	„		$2\ H_2O$ 20 U^+	2,6	3,1
$4\ H_2O$	10	„	20 U^+ 24 Std. Brutschrank		6,2	6,65

Hier ist die Schutzwirkung sehr deutlich. Da das neue Ferment relativ schwach war, wurde der Versuch mit einer 0,08proz. Fermentlösung wiederholt.

Versuch 9.

$2\ CaCl_2$	10	Ferment	24 Std. Brutschrank, dann zugesetzt	$2\ H_2O$ 20 U^+	28,9	28,3
$2\ H_2O$	10	„		$2\ CaCl_2$ 20 U^+	6,8	9,3
$2\ H_2O$	10	„		$2\ H_2O$ 20 U^+	5,1	5,3
$2\ CaCl_2$	10	„	20 U^+ 24 Std. Brutschrank		27,75	27,1

Hier ist der Beweis des Fermentschutzes eindeutig geliefert, da die Wirkung der Fermentlösung, die 24 Stunden mit Calcium vorbehandelt war, die Wirkung des sofort in Gegenwart von Calcium wirkenden Ferments sogar übertraf.

Es wurde auch noch einmal geprüft, inwieweit die Calciumwirkung von der Konzentration abhängig ist. Die Wirkung steigt mit der Konzentration, wie das auch *Hosokawa* schon gefunden hatte:

Versuch 10.

1. 0,5 $CaCl_2$	10	Ferment	20 U^+	10,8	11,55
2. 1,0 $CaCl_2$	10	„	20 U^+	14,5	14,6
3. 2,0 $CaCl_2$	10	„	20 U^+	19,1	19,55
4. 4,0 $CaCl_2$	10	„	20 U^+	23,0	22,9

Die Mischungen 1. bis 3. waren durch Wasser auf das gleiche Volumen wie 4. gebracht worden.

Bisher steht also fest: 1. daß Calcium in Phosphatlösung die Ureasewirkung proportional seiner Konzentration steigert; 2. daß Calcium das Ferment, das nicht in Wirksamkeit ist, weil ihm der Harnstoff als Substrat fehlt, vor der Zersetzung schützt; 3. daß auch das vorher der Selbstzersetzung ausgelieferte Ferment durch Calciumzusatz noch in der Wirkung gesteigert wird.

Zur Erklärung des Mechanismus dieser Wirkungen knüpften wir an die Tatsache an, daß Calcium und Strontium, welche ja beide wirksam sind, in dem Phosphatmilieu Niederschläge bilden, während die unwirksamen Kalium- und Natriumverbindungen dies nicht tun. Es war also daran zu denken, daß das Ferment durch Adsorption an den Niederschlag in seiner Wirkung gesteigert wird. Ein derartiger Zusammenhang wäre nach den Beobachtungen *Willstätters* möglich, nach denen es bei der Adsorption von Enzymen durch Abtrennung von störenden Begleitstoffen zu einer Wirkungssteigerung kommen kann. Auch bei der von *Jacoby*[1]) beschriebenen Ureaseadsorption an Fibrinflocken könnte nach den Versuchen von *Hosokawa* eine Steigerung durch Adsorption im Spiele sein.

Zunächst wurde geprüft, ob Calcium auch in wässeriger Lösung seine Wirkung ausübt.

Versuch 11.

							Wiederholung	
1.	2 $CaCl_2$	10	Ferment	20 U^+	5,5	4,4	7,1	6,2
2.	2 H_2O	10	„	20 U^+	16,6	16,3	18,85	18,2
3.	2 $CaCl_2$	10	„	20 U^+	61,15	59,55		
4.	2 H_2O	10	„	20 U^+	46,55	44,2		

In Reihe 1. und 2. waren Ferment und Harnstoff in destilliertem Wasser, in Reihe 3. und 4. in Phosphatgemisch gelöst.

Das Resultat ist überraschend: In wässeriger Lösung scheint Calcium sogar einen hemmenden Einfluß auf das Ferment auszuüben. Da aber die Reaktionsverhältnisse in der wässerigen Lösung und in der Phosphatlösung sehr verschieden waren, wurde noch ein anderer Weg zur Prüfung der Frage eingeschlagen.

Die Pufferung der Gemische wurde mit n Na-Acetatlösung hergestellt. Die Wasserstoffionenkonzentration dieser filtrierten und absolut klaren Lösung entsprach derjenigen der bisher verwandten Phosphatlösung. Calcium gab in der Acetatlösung keinen Niederschlag. Erst am Schluß des Versuchs nach Beendigung der Fermentwirkung waren die Acetatgemische milchig getrübt, aber auch jetzt bestand kein grob-disperser Niederschlag.

---

[1]) Diese Zeitschr. 74, 93, 1916.

In den nächsten Versuchen wurde eine 0,16proz. Fermentlösung benutzt.

Versuch 12.

2 H_2O	10 Ferment	20 U^+	in Phosphatlösung	37,8	39,85
2 $CaCl_2$	10 „	20 U^+		54,0	57,2
2 H_2O	10 „	20 U^+	in Acetatlösung	8,2	8,05
2 $CaCl_2$	10 „	20 U^+		8,2	7,0

In der Phosphatlösung sehen wir die übliche Steigerung durch Calcium, in der Acetatlösung keine Steigerung, aber überhaupt sehr niedrige Zahlen. Da die Reaktion überall die gleiche war, konnte vielleicht die hohe Konzentration der Acetatlösung die Hemmung der Ureasewirkung verschulden. Der Versuch wurde deshalb mit n/5 Acetatlösung wiederholt. Auch hier zeigte sich am Schluß der Versuche eine leichte Trübung in den Mischungen. Im übrigen fielen die Resultate ganz ähnlich aus wie im vorigen Versuche.

Versuch 13.

2 $CaCl_2$	10 Ferment	20 U^+	in n/1 Na-Acetat	8,0	8,3
2 H_2O	10 „	20 U^+	„ n/5 „	9,9	11,8
2 $CaCl_2$	10 „	20 U^+	„ n/5 „	9,5	9,05

Also auch so war es nicht möglich, die Frage der Calciumwirkung zu klären.

Wenn die Calciumwirkung wirklich nur auf Adsorption beruhen sollte, so mußte ein anderes Adsorbens wie z. B. die Kohle dieselbe Wirkung ausüben. Ich benutzte von *Kahlbaum* bezogene „Knochenkohle gepulvert", die ein sehr fein gepulvertes Präparat ist. Die Kohle wurde in einzelnen Portionen auf Uhrgläschen mit der Analysenwage genau abgewogen und mit je 2 ccm destillierten Wassers in den Versuchskolben gespült.

Versuch 14 (46 Stunden Brutschrank).

2 H_2O	10 mg Kohle	10 Ferment	20 U^+	51,35	50,3
2 H_2O		10 „	20 U^+	37,0	38,0
2 $CaCl_2$		10 „	20 U^+	54,35	51,9

Ferment und Harnstoff waren in Phosphatmischung gelöst. Es ergibt sich also eine überraschend weitgehende Übereinstimmung zwischen der Calcium- und der Kohlewirkung. Auch kleinere Mengen Kohle waren hoch wirksam:

Versuch 15.

2 H_2O	5 mg Kohle	10 Ferment	20 U^+	43,0	41,25
2 H_2O	10 „ „	10 „	20 U^+	47,3	50,1
2 H_2O		10 „	20 U^+	31,6	31,8
2 $CaCl_2$		10 „	20 U^+	48,3	50,0

Versuch 16 (46 Stunden Brutschrank).

2 H_2O	1 mg Kohle	10 Ferment	20 U^+	51,35	54,3
2 H_2O	2 „ „	10 „	20 U^+	51,15	53,6
2 H_2O	5 „ „	10 „	20 U^+	58,55	57,5
2 H_2O		10 „	20 U^+	43,3	44,85

Daß Calcium und Kohle an sich Harnstoff nicht zu spalten vermögen, ergibt sich aus folgenden Versuchen:

Versuch 17.

2 $CaCl_2$	20 U^+		3,5	2,95	3,1	3,2
2 H_2O	5 mg Kohle	20 U^+	3,1	3,6		

Ist die Fermentanregung durch Calcium in der Tat nur Adsorptionswirkung, so muß diese Wirkung wegfallen, wenn der Calciumphosphatniederschlag vor dem Fermentzusatz abfiltriert wird. Um das zu prüfen, wurden die üblichen Mengen Calciumchlorid zu der Harnstoffphosphatlösung zugesetzt und der Niederschlag durch Filtrieren restlos entfernt. Das Filtrat war völlig klar, bei Zusatz von Natriumphosphat entstand kein Niederschlag, so daß Calciumionen anscheinend nicht vorhanden waren. Die Acidität (p_H 7,2) war unverändert dieselbe wie in der unfiltrierten Lösung, die als Kontrolle mit angesetzt wurde. Erst nach dem Filtrieren wurden Öl, Toluol und das Ferment in wässeriger Lösung zugesetzt. Die filtrierten Lösungen blieben auch nach 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank völlig klar. Das Resultat brachte eine Überraschung:

Versuch 18.

2 $CaCl_2$	20 U^+	(einmal filtriert)	10 Ferment	(in H_2O)	80,85	79,5
2 H_2O	20 U^+		10 „	(„ H_2O)	27,9	27,15

Versuch 19.

2 $CaCl_2$	20 U^+	(zweimal filtriert)	10 Ferment	(in H_2O)	116,65	112,4
2 H_2O	20 U^+	(„ „)	10 „	(„ H_2O)	38,3	36,5
2 $CaCl_2$	20 U^+		10 „	(„ H_2O)	47,85	50,25

An eine Adsorptionswirkung ist hier nicht zu denken. Durch die Entfernung des Calciumphosphatniederschlages scheint eher ein Hemmungsfaktor beseitigt zu sein. Also muß das Calciumion in einer anderen Weise seine Wirkung entfalten können. Schon in früheren Versuchen (5 und 6) fiel auf, daß die Calciumwirkung am deutlichsten hervortrat, wenn das Calciumchlorid zuerst mit dem Harnstoff in Berührung gebracht wurde. Nun ist es bekannt, daß der Harnstoff mit verschiedenen anorganischen Salzen Komplexverbindungen eingeht, so mit Calcium die Verbindung $[Ca(OCN_2H_4)_6](NO_3)_2$. Es handelt sich hier um eine der Einlagerungsverbindungen, die *Werner* eingehend untersucht hat. Vielleicht wird der Harnstoffspaltungsprozeß durch intermediäre Bildung einer Komplexverbindung aus dem Grunde beschleunigt, weil der Harnstoff in komplexer Bindung überhaupt leichter gespalten wird. Hiervon hat sich *Jacoby* schon vor Jahren in nicht besonders veröffentlichten Versuchen mit dem ihm von *Werner* überlassenen Hexaharnstoffchromibromid $[Cr(OCN_2H_4)_6]Br_3$ überzeugt.

Bei den Aminosäuren haben *Jacoby* und *Umeda*[1]) bereits geprüft, ob etwa die betreffenden Ureide leichter gespalten werden als Harnstoff. Das war nicht der Fall. Es ist aber auch hier nicht ausgeschlossen, daß komplexe Verbindungen in Frage kommen. Da vermutlich das Enzym mit dem Substrat zunächst eine komplexe Verbindung eingehen muß, nach *Jacoby*[2]) sogar vielleicht nur Stoffe fermentativ gespalten werden, die geeignet sind, in eine Komplexverbindung einzutreten, ist es durchaus naheliegend, an solche Zusammenhänge zu denken.

Experimentell wäre nunmehr zu prüfen:

1. Ob die Calciumwirkung ausbleibt, wenn man das Calciumchlorid mit der Phosphatlösung vor Zusatz des Harnstoffs mischt und filtriert; das ist sehr wahrscheinlich.

2. Ob nach geeigneter Behandlung, d. h. nach Zerstörung der etwa gebildeten Komplexverbindung Calcium in dem Filtrat noch nachweisbar ist.

So viel kann man schon mit Bestimmtheit sagen, daß die Calciumwirkung nicht einheitlich als Adsorptionswirkung aufgefaßt werden darf. Wir haben uns auch experimentell davon überzeugt, daß die sogenannte Schutzwirkung des Calciums (Versuch 8 und 9) nicht als Adsorptionswirkung gedeutet werden kann. Denn ein Parallelversuch mit Tierkohle ergab bei entsprechender Versuchsanordnung nicht den gleichen Effekt:

Versuch 20.

2 H_2O	10 mg Kohle	10 Ferment	24 Std. Brutschrank, dann zugesetzt	20 U^+	10,0	12,8
2 H_2O		10 „		20 U^+	7,75	8,2
2 $CaCl_2$		10 „		20 U^+	67,2	63,25

Ferment und Harnstoff waren in Phosphatmischung gelöst.

Calcium ist anscheinend eine Substanz, welche nach verschiedenen Richtungen hin bei Fermentvorgängen eingreifen kann. Wir möchten hier hervorheben, daß es wohl als Bindeglied zwischen spezifisch abgestimmten Reaktionskomponenten funktionieren kann. Es sind aber noch weitere Untersuchungen notwendig, um den Mechanismus der Calciumwirkung völlig aufzuklären.

Im Anschluß an die Versuche von *Hosokawa*, in denen sich bei bestimmten Versuchsanordnungen eine antagonistische Wirkung des Magnesiums gegenüber Strontium bei Ureaseversuchen gezeigt hatte, habe ich dann noch untersucht, inwieweit die Magnesiumwirkung die des Calciums beeinflussen kann.

[1]) Diese Zeitschr. 68, 23, 1914.

[2]) Jahresbericht über die gesamte Physiologie usw. 1 (Bericht über das Jahr 1920), 132.

Versuch 21.

0,5 $MgCl_2$ (4 proz.)	1,5 H_2O	10 Ferment	20 U^+	44,05	44,5
1,0 $MgCl_2$ (4 „)	1,0 H_2O	10 „	20 U^+	44,9	—
2,0 $MgCl_2$ (4 „)		10 „	20 U^+	58,1	59,4

Versuch 22.

1,5 H_2O	0,5 $MgCl_2$ (4 proz.)	2 $CaCl_2$	10 Ferment	20 U^+	64,2	61,25
1,0 H_2O	1,0 $MgCl_2$ (4 „)	2 $CaCl_2$	10 „	20 U^+	68,75	73,4
	2,0 $MgCl_2$ (4 „)	2 $CaCl_2$	10 „	20 U^+	81,8	84,0
2 H_2O		2 $CaCl_2$	10 „	20 U^+	80,6	82,1

Versuch 23.

2 $CaCl_2$	2 NaCl	10 Ferment (0,08 proz.)	20 U^+	26,55	26,8
2 $MgCl_2$	2 NaCl (1 proz.)	10 „ (0,08 „)	20 U^+	12,25	12,0
2 $CaCl_2$	2 $MgCl_2$ (1 „)	10 „ (0,08 „)	20 U^+	21,65	21,45

In großen Dosen kann also Magnesiumchlorid die Ureasewirkung direkt steigern (Versuch 21). Umgekehrt wirkt Magnesiumchlorid der Calciumwirkung in kleinen Dosen entgegen (Versuch 22 und 23). Auch diese Versuche können nur als Material dienen, das die Klärung allmählich vorbereitet. Aber schon jetzt erkennt man, daß hier sehr interessante Beziehungen vorliegen.

Zusammenfassung.

Calcium steigert die Ureasewirkung, und zwar entsprechend seiner Konzentration. Calcium wirkt am stärksten, wenn es auf den Harnstoff vor dem Fermentzusatz einwirkt. Bringt man das Ferment mit Calcium in Abwesenheit von Harnstoff zusammen, so bemerkt man, daß es das Ferment für längere Zeit vor der spontanen Zerstörung schützt. Überläßt man die Urease zunächst der spontanen Zersetzung und läßt sie dann in Gegenwart von Calcium wirken, so ist auch dann das Ferment wirksamer als in Abwesenheit von Calcium.

Läßt man die Urease in wässeriger Lösung auf Harnstoff einwirken oder puffert man die Lösung anstatt mit Phosphat mit Natriumacetat, so beobachtet man keine Wirkungssteigerung durch Calcium. Da Calciumchlorid mit den Phosphaten einen Niederschlag von Calciumphosphat, das nach *Jacoby* und *Shimizu* Urease adsorbiert, bildet, wurde geprüft, ob etwa die Wirkungssteigerung durch Adsorption des Ferments an den Niederschlag zustande kommt. Das ist nicht der Fall, denn auch das Harnstoff enthaltende Filtrat der Calciumphosphatmischung, in dem durch Phosphorsäure kein Calcium mehr direkt nachweisbar ist, wirkt noch verstärkend auf das Ferment. Bei diesen Untersuchungen ergab sich, daß Kohlepulver schon in sehr kleinen Mengen die Ureasewirkung steigert; die beim Calcium beobachtete Schutzwirkung gegenüber dem Ferment kommt aber der Kohle nicht zu.

Während Magnesium an und für sich in großen Dosen die Ureasewirkung steigern kann, hemmt es bei geeigneter Versuchsanordnung die Calciumwirkung.

Man sieht also, daß schon ein einzelner Auxokörper der Urease an verschiedenen Punkten angreifen kann. So haben wir feststellen können, daß ein Teil der Calciumwirkung sicher eine Schutzwirkung gegenüber der spontanen Fermentzersetzung ist. Aber darin erschöpft sich nicht die ganze Calciumwirkung. *Nakagawa*[1]) hatte das bei den Aminosäuren theoretisch für die Auxokörper angenommen, weil in Abwesenheit eines Auxokörpers das Zeitgesetz nicht gilt. Anzustreben ist, den Schutzkörper nach Beendigung der beabsichtigten Schutzwirkung auszuschalten. Das hatte schon *Hosokawa* versucht, indem er die antagonistische Wirkung des Magnesiums gegenüber dem Strontium benutzte. Damals wurden noch keine klaren Resultate über diesen Punkt erhalten. Man wird also diese Frage jetzt weiter studieren müssen.

---

[1]) Mitt. a. d. med. Fak. d. Kais. Univ. Tokio 28, H. 2, S. 383, 1922.

Physikalisch-chemische Untersuchungen über die Harnsäure.

II. Mitteilung:

Über die hydrotropische Beeinflussung der Harnsäure.

Von

Rudolf Stern.

(Aus der medizinischen Klinik der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 30. Juli 1924.)

Nachdem in der vorigen Mitteilung (1) gezeigt worden ist, daß die Harnsäure[1]) in wässeriger Lösung als Kolloid vorhanden sein *kann*, daß aber die Gesetzmäßigkeiten dieser Kolloidentstehung noch der Aufklärung harren, erschien es von großem Interesse festzustellen, ob es andere, scharf präzisierbare Bedingungen gibt, unter denen die Harnsäure sich in größeren Mengen in Wasser löst, als den von *His* (3) ermittelten und neuerdings von *Biltz* (4) bestätigten Werten entspricht. Es lag nahe, hier die Erscheinungen der *Hydrotropie* zum weiteren Studium heranzuziehen. Mit der Beschreibung dieser Erscheinungen hat *Neuberg* (5) im Jahre 1916 der Chemie ein neues Gebiet erschlossen. Als Hydrotropie bezeichnete er die Eigenschaft, die zahlreiche Salze besitzen, in Wasser schwer lösliche Substanzen in wässerige Lösung überzuführen, ohne daß offenbar eine chemische Umsetzung dabei stattfindet. Er hat damals ein ungeheuer großes Tatsachenmaterial mitgeteilt, während er sich über die Theorie seiner so wichtigen Entdeckung noch nicht abschließend hat äußern wollen. „Unbekannte Affinitätskräfte und rein physikalische Einflüsse dürften bei den hydrotropischen Erscheinungen vereint sein.“

Neuberg hat auch bereits beschrieben, daß die Harnsäure hydrotropisch beeinflußbar ist. Er hat in 40- bis 50proz. Lösungen von Natriumbenzoat, hippursaurem Natrium, valeriansaurem Kalium und phenylessigsaurem Natrium Harnsäure in erheblich größerem Umfange zur Lösung gebracht als in destilliertem Wasser. Allerdings wurden einzelne dieser sehr konzentrierten Harnsäurelösungen bei längerem Stehen trübe. Angeregt von seinen Versuchen steckte ich mir folgende Ziele:

[1]) Ich gebrauche dieses Wort hier ebenso wie *Kohler* (2) im weiteren Sinne, d. h. verstehe darunter auch die harnsauren Salze.

1. Ich wollte *Neubergs* Versuche *quantitativ* gestalten, d. h. feststellen, welche genaue Menge von Harnsäure bei Zusatz hydrotropisch wirksamer Salze in Lösung gebracht werden kann.

2. Ich wollte prüfen, ob und in welchem Umfange diese erhöhte Löslichkeit eine *dauernde* ist. Bei der großen Neigung der Harnsäure, schon an und für sich übersättigte Lösungen zu bilden, mußte ich mein besonderes Augenmerk darauf richten, hier jede Fehlerquelle auszuschließen.

3. Es schien mir vor allem von größtem Interesse, ob die hydrotropische Beeinflussung besonders durch solche Salze zu erzielen ist, die als Heilmittel der Gicht bekannt sind und über deren Wirkungsmechanismus in dieser Hinsicht noch nichts Abschließendes bekannt ist.

Ich begann meine Untersuchungen mit salicylsaurem Natrium, dessen hydrotropische Fähigkeiten *Neuberg* außer auf Harnsäure auch bereits an schwer löslichen Carbonaten und Phosphaten nachgewiesen hatte.

Um meine oben erwähnten Ziele zu erreichen, und um jede Fehlerquelle der Übersättigung zu vermeiden, mußte ich für diese Versuche denselben Weg wählen, den schon *His* eingeschlagen hatte, und dessen Notwendigkeit *Biltz* und *Herrmann*[1]) neuerdings wieder scharf hervorgehoben haben: Das Schütteln der zu untersuchenden Lösungen mit Bodenkörper während einer größeren Zahl von Stunden. Die quantitative Analyse der in Lösung gegangenen Harnsäure stellte ich ebenso wie *His* derart an, daß ich den ungelösten Rückstand zurückwog. Zur Kontrolle bestimmte ich gelegentlich im klaren Filtrate den Stickstoff nach *Kjeldahl*, da mir zum Eindampfen keine genügend große Platinschale zur Verfügung stand. Die so erhaltenen Werte zeigten leidliche Übereinstimmung.

Ich ging nun in folgender Weise vor: Zwei völlig gleiche 2½ Liter fassende Glasflaschen mit eingeschliffenem Stopfen wurden sorgfältig nach der *Ostwald*schen Methode ausgedampft. In jede gab ich 2000 mg Harnsäure und fügte in die erste 2 Liter Wasser, in die zweite 2 Liter einer 0,1 proz. Lösung von salicylsaurem Natrium hinzu. Dieses sowohl wie die Harnsäure waren stets analysenreine Präparate von *Merck* oder *Kahlbaum*. Die Harnsäure reinigte ich gewöhnlich selbst nochmals durch Umfällen über das Natriumsalz und mehrmaliges Umkristallisieren aus heißem Wasser. Das Wasser, das ich verwendete, war zunächst das gewöhnliche destillierte Wasser unseres Laboratoriums; später verwendete ich *Kahlbaum*sches Leitfähigkeitswasser. Über die Fehlerquelle, die durch das Wasser verursacht wird, werde ich weiter unten

[1]) Es ist mir ein Bedürfnis, Herrn Prof. *Biltz* und Fräulein Dr. *Herrmann* auch an dieser Stelle für ihre wertvollen Ratschläge besten Dank zu sagen.

ausführlich sprechen. Ich wählte für das salicylsaure Natrium eine so sehr geringe Konzentration, obwohl *Neuberg* ausdrücklich hervorhebt, daß der hydrotropische Effekt an konzentrierten Lösungen sehr viel besser zu beobachten ist als an verdünnten. Mir lag aber daran, Zahlenverhältnisse zu wählen, die sich wenigstens in der Größenordnung mit den in der Gichttherapie verwendeten Dosen deckten. Die in oben beschriebener Weise beschickten Flaschen wurden dann auf eine Schüttelmaschine gebracht und gewöhnlich 4, manchmal auch 8 Stunden geschüttelt. Ich fand ebenso wie *Biltz* und *Herrmann*, daß nach 4 Stunden keine Änderung der Löslichkeit mehr eintrat. Ebenso wie *Biltz* mußte ich mich damit begnügen, die Temperatur von 18° C, die während der Versuche im Laboratorium gewöhnlich herrschte, als konstant anzunehmen und hierbei entstehende kleine Fehlerquellen zu vernachlässigen. Ich konnte dies um so mehr, als ich ja nicht die von *His* und *Biltz* exakt gemessene *absolute* Löslichkeit nachprüfen, sondern lediglich die unter völlig gleichen Bedingungen hydrotropisch verursachte Löslichkeits*erhöhung* vergleichsweise feststellen wollte. Alles kam darauf an, ob der hierbei entstehende Ausschlag genügend groß und genügend konstant sein würde.

Nach dem Schütteln wurden die Lösungen sofort durch gewogenen Goochtiegel durchgesaugt. Ich verwendete dazu die erst kürzlich von *Schott* in den Handel gebrachten Glastiegel, mit denen es sich außerordentlich rasch und angenehm arbeiten läßt. Die an den Wänden der Flaschen haftenden Bodenkörperteilchen wurden durch mehrmaliges Nachspülen mit dem betreffenden Filtrat gleichfalls auf den Tiegel gebracht. Gewöhnlich genügte zwei- bis dreimaliges Durchsaugen, um ein völlig klares Filtrat zu erhalten. Die Tiegel wurden dann im Vakuumexsikkator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, um die Fehlerquelle der Erhitzung im Trockenschrank zu vermeiden.

Bei dieser Versuchsanordnung erhielt ich bereits einen deutlichen, wenn auch sehr schwachen, hydrotropischen Effekt. Aus der beifolgenden Tabelle ist ersichtlich, daß die Erhöhung der Löslichkeit durch das salicylsaure Natrium so konstant ist, daß man von einem sicheren Effekt sprechen kann, auch wenn die absoluten Werte eine erhebliche Streuung zeigen. Die Tatsache, daß im Durchschnitt die Kontrollwerte für reines Wasser eine um fast 50 Proz. höhere Löslichkeit zeigen als die von *His* und *Biltz* ermittelte, muß zweifellos dem nicht genügend reinen Wasser zur Last gelegt werden. Aus technischen Gründen war es nicht möglich, diesem Übelstande abzuhelfen, und, wie ich schon oben ausgeführt habe, scheint mir diese Fehlerquelle nicht allzu wichtig, da die Ausschläge, die ich bei Hinzufügung der hydrotropisch wirksamen Substanz erhielt, konstant und genügend groß waren. Dies war besonders dann der Fall, als ich von der 0,1 proz. zu einer 1 proz. Lösung

von salicylsaurem Natron überging. Ich glaubte, dies tun zu können, ohne meinem leitenden Gesichtspunkte untreu zu werden, da ja *Bondi* und *Jacoby* (6) für die Salicylsäure direkt eine Anhäufung an den Orten pathologischen Geschehens konstatiert haben. Bei der 1 proz. Lösung betrug also der hydrotropische Effekt bereits 100 Proz., d. h. es wurde in ihr doppelt so viel Harnsäure gelöst gefunden wie in der gleichmäßig behandelten Kontrolle mit reinem Wasser.

Die Salicylpräparate sind in der Behandlung der Arthritis urica allmählich fast ganz verdrängt worden durch die 2-Phenyl-4-Chinolincarbonsäure, das von *Dohrn* in die klinische Medizin eingeführte Atophan. Über seinen pharmakologischen Angriffspunkt ist bereits manches bekannt [*Dohrn* (7), *Frank* und *Pietrulla* (8), *Frank* und *Przedborski* (9)]. Immerhin schien es von großem Interesse, ob seinem überlegenen therapeutischen Effekt auch in vitro noch größere hydrotropische Fähigkeiten gegenüber der Harnsäure entsprechen, als sie beim Natriumsalicylat nachweisbar waren. Ich verwendete zunächst Atophanyl, also eine Kombination von Atophan und salicylsaurem Natron, und konnte dabei bereits feststellen, daß der hydrotropische Effekt ganz erheblich größer war, als den enthaltenen Mengen von Salicylat nach meinen früheren Untersuchungen entsprechen konnte. Später verwendete ich das reine Natriumsalz des Atophans in einer Konzentration von 0,1 Proz.[1]). Aus der am Schlusse beigefügten Tabelle ist nun ersichtlich, daß die hydrotropische Wirkung des Atophannatriums bereits in dieser geringen Konzentration rund 200 Proz. betrug, d. h., es wurde bei Verwendung dieses Präparats ungefähr dreimal soviel Harnsäure in Lösung gebracht als in der Kontrolle.

Es ist also in der Tat der Fall und sicherlich recht bemerkenswert, daß das Atophannatrium in zehnfach schwächerer Konzentration doppelt so stark hydrotropisch auf Harnsäure wirkt wie das Salicylat.

Was nun den zweiten Punkt anlangt, auf den ich mein besonderes Augenmerk richten wollte, so war dies die Frage, ob die hydrotropisch erhöhte Löslichkeit der Harnsäure als eine echte, d. h. stabile aufgefaßt werden kann. Die von *Gudzent* (10) ausgebaute Lactam-Lactimtheorie und besonders die von *Kohler* (11) studierten Übersättigungserscheinungen[2]), die als bekannt vorausgesetzt werden dürfen, mußten zu größter Vorsicht in der Beurteilung des beobachteten Effekts mahnen. Aber abgesehen davon, daß durch vier- bis achtstündiges Schütteln

---

[1]) Für die freundliche Überlassung dieses Präparats bin ich der Chemischen Fabrik auf Aktien, vorm. Schering, zu besonderem Dank verpflichtet, um so mehr, als ihre gewöhnlichen Handelspräparate einen geringen Eucainzusatz enthalten, der bei meinen Versuchen störend gewesen wäre.

[2]) *Gudzent* (12) selbst stellt neuerdings seine Theorie zugunsten der *Kohler*schen Auffassung zurück.

mit dem Bodenkörper nach Ansicht aller Autoren, die sich eingehend mit der Harnsäure beschäftigt haben, ein dauerndes Gleichgewicht sicher hergestellt ist, habe ich die den hydrotropischen Effekt zeigenden Lösungen monatelang aufbewahrt, ohne je Trübung, geschweige Ausfällungen in ihnen wahrzunehmen. *Ich glaube also, daß man berechtigt ist, die hydrotropische Wirksamkeit der Natriumsalze der Salicylsäure und des Atophans nicht nur als sicheren, sondern auch als dauernden Effekt aufzufassen.*

Schließlich möchte ich noch erwähnen, daß ich auch an folgende Fehlerquelle gedacht habe: Die hydrotropisch wirksamen Salze könnten das p_H des Lösungswassers verändern, und wir wissen ja aus den eingehenden Untersuchungen von *Kohler* (2), *Jung* (13) und *Harpuder* (14), daß die Löslichkeit der Harnsäure unter anderen auch eine Funktion des p_H ist. Obwohl nun so große Schwankungen der Löslichkeit als abhängig von p_H nach den eben zitierten Untersuchungen undenkbar erschienen, habe ich doch die verwendeten Lösungen von Atophannatrium mit der Methode von *L. Michaelis* kolorimetrisch bestimmt und nicht den mindesten Unterschied zwischen ihnen und dem reinen Leitfähigkeitswasser gefunden. Damit dürfte auch diese Fehlerquelle als ausgeschaltet gelten.

Noch eine zweite Fehlerquelle bzw. andere Deutungsmöglichkeit muß kurz erörtert werden. Es kann sich bei meinen Versuchen meines Erachtens *nicht* darum handeln, daß die Steigerung der Löslichkeit der Harnsäure auf einer etwaigen Salzbildung mit dem Natriumion des zugesetzten hydrotropen Salzes beruht. Nach *Lundén* (15) ist die Harnsäure etwa 1000mal schwächer als die Salicylsäure. Ihre Dissoziationskonstante ist $1{,}5 . 10^{-3}$, die der Salicylsäure $1{,}02 . 10^{-6}$. Man kann leicht auch mathematisch abschätzen, daß praktisch eine Verdrängung der Salicylsäure durch die Harnsäure nicht eintreten kann. Übrigens hat auch schon *Gudzent* (16) gezeigt, daß die Löslichkeit der Harnsäure in n/10 NaH_2PO_4-Lösung nicht im mindesten größer ist als in reinem Wasser. Dies stimmt durchaus mit meiner Auffassung überein, daß die erhöhte Löslichkeit in meinen Versuchen auf einer hydrotropen Wirksamkeit der verwendeten Salze beruht, einer Wirksamkeit, die das Natriumphosphat ja zweifellos nicht besitzt. Beim Atophannatrium liegen die Verhältnisse etwas komplizierter, weil meines Wissens die Dissoziationskonstante des reinen Atophans, das ja im Wasser fast unlöslich ist, noch gar nicht gemessen ist. Hier scheint mir aber eine andere Überlegung meine Auffassung von der hydrotropen Wirksamkeit des Atophannatriums zu stützen. Gerade weil das reine Atophan in Wasser praktisch unlöslich ist [vgl. *Nicolaier-Dohrn* (17)], müßte in meinen Versuchen aus seiner Natriumverbindung verdrängtes Atophan *ausfallen*, wenn eine Bildung von harnsaurem Natron stattfinden würde.

Eine solche Ausfällung tritt ja natürlich ein, wenn man Atophannatriumlösungen zu stärkeren Säuren, z. B. n/100 Essigsäure hinzugibt. Ich habe aber festgestellt, daß man zu gesättigten Harnsäurelösungen Atophannatriumlösungen in viel höherer Konzentration, als wie ich sie in meinen hydrotropischen Versuchen verwendet habe, hinzufügen kann, ohne daß auch nur die leiseste Trübung, geschweige denn die Andeutung eines Niederschlages zu beobachten ist. Es scheint also ziemlich sichergestellt, daß in meinen Versuchen die erhöhte Löslichkeit nicht auf einer Bildung des leichter löslichen Mononatriumurats beruht, sondern wirklich einen hydrotropischen Effekt darstellt.

Eine biologische Auswertung dieser Resultate soll erst versucht werden, wenn die weiteren im Gange befindlichen Untersuchungen zum Abschluß gekommen sind.

Tabelle ausgewählter Versuchsprotokolle.

1924	mg gelöste Harnsäure pro Liter			Rotationsdauer	Temperatur
	in		dest. Wasser	Std.	°C
16. II. . . .	0,1 Proz. Natrium salicylicum	50	38	4	18
27. II. . . .	1 „ „ „	74	37	4	16
28. III. . .	1 „ Atophanyl = 0,1 Proz. Atophan-Natrium 0,1 „ Natrium salicylicum	104	38	4	17
			Leitfähigkeitswasser		
5. IV. . .	0,1 Proz. Atophan-Natrium	122	48	4	18
9. V. . . .	0,1 „ „ „	129	41	8	19
6. VI. . .	0,12 „ „ „	134	42	8	19
10. VII. . .	0,2 „ „ „	182	43	8	22

Literatur.

1) *Stern*, diese Zeitschr., dieser Band. — 2) *Kohler* und *Krüger*, Zeitschr. f. klin. Med. **97**, 381; daselbst Verzeichnis der älteren Arbeiten von *Kohler*. — 3) *His* und *Paul*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**. — 4) *Biltz* und *Herrmann*, Ann. **431**, 1; *L. Herrmann*, Inaug.-Diss., Breslau 1923. — 5) *Neuberg*, diese Zeitschr. **76**. s. auch *Tamba* (unter *Neuberg*), ebendaselbst **145**; *R. Stern*, ebendaselbst **144**. — 6) *Bondi* und *Jacoby*, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **7**, 514; Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **102**, 1. — 7) *Dohrn*, Zeitschr. f. klin. Med. **74**. — 8) *Frank-Pietrulla*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **77**, 361. — 9) *Frank-Przedborski*, ebendaselbst **68**; s. auch *Frank-Bauch*, Berl. klin. Wochenschr. 1911. — 10) *Gudzent*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **68** und **89**. — 11) *Kohler*, Ergebn. d. inn. Med. 1919. — 12) *Gudzent*, Zeitschr. f. klin. Med. **99**. — 13) *Jung*, Helv. chim. acta **5** und **6**. — 14) *Harpuder*, diese Zeitschr. **148**. — 15) *Lundén*, Affinitätsmessungen an schwachen Säuren und Basen, Sammlung chem. u. chem.-techn. Vorträge **14**. — 16) *Gudzent*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **68**, 457. — 17) *Nicolaier-Dohrn*, Arch. f. klin. Med. **98**, 332.

Für diese Arbeit standen mir Mittel der Rockefeller-Foundation zur Verfügung, wofür ich auch an dieser Stelle ergebensten Dank sage.

Über einen Fall von Porphyrinurie.

Von

P. Hári.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der königl. ungar. Universität Budapest.)

(Eingegangen am 31. Juli 1924.)

Seit den eingehenden Arbeiten von *H. Fischer* einerseits und *O. Schumm* andererseits ist die Frage der Porphyrinurie wenigstens so weit geklärt, als es als erwiesen erachtet werden kann, daß im Harn weder Hämato- noch aber Mesoporphyrin ausgeschieden wird, sondern in weitaus den meisten Fällen von Porphyrinurie ein von den beiden genannten verschiedenes Porphyrin, das sogenannte *Koproporphyrin*, $C_{36}H_{38}N_4O_8$ (das außerdem auch in jedem normalen Menschenkot enthalten ist), und nur in den Fällen der sogenannten kongenitalen Porphyrinurie wird ein viertes von den vorgenannten wieder verschiedenes Porphyrin, das sogenannte *Uroporphyrin*, $C_{40}H_{36}N_4O_{16}$, ausgeschieden[1]).

Vor einigen Jahren hatte ich[2]) Gelegenheit, spektrophotometrische Bestimmungen an dem aus einem Porphyrinharn (allerdings sicher nicht chemisch rein) isolierten Farbstoff auszuführen, und konnte mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, „daß der von mir untersuchte Farbstoff ..., wenn auch dem Hämatoporphyrin recht nahe stehend, dennoch mit Hämatoporphyrin nicht identisch war, ...“. Den Schwierigkeiten, die sich in den letzten Kriegsjahren, noch mehr in der ersten Nachkriegszeit, in der Beschaffung der Fachliteratur besonders hierzulande fühlbar machten und erst seit kurzem gelindert erscheinen, ist es einerseits zuzuschreiben, daß ich den von mir untersuchten Fall seinerzeit nicht so klar deuten konnte, wie dies heute möglich ist, andererseits aber auch, daß gewisse Mängel in der experimentellen Bearbeitung des Falles unterlaufen sind, deren Folgen mir erst nachträglich bewußt wurden.

Den aus dem Harn mittels des *Salkowski*schen Verfahrens[3]) isolierten Farbstoff habe ich mit Salzsäure und Alkohol verrieben und das Filtrat sofort mit einer starken wässerigen Ammoniaklösung übersättigt; dabei fiel ein Teil des Farbstoffs als Niederschlag zu Boden, ein anderer Teil war in Lösung verblieben. Diese Lösung war es, an der ich zunächst die spektrophotometrische Untersuchung vornahm, um auf diesem Wege die Lage der Absorptionsmaxima festzustellen.

---

[1]) *O. Schumm*, H. **119**, 139, 1922; **126**, 169, 1923. — [2]) *Paul Hári*, diese Zeitschr. **135**, 344, 1922. — [3]) *E. Salkowski*, H. **15**, 294, 1891.

Die so erhaltenen Werte sollen nun mit denen verglichen werden, die *Schumm*[1]) an wässerig-alkalischen Lösungen (n/10 KOH) von Hämato-, Meso-, Uro- und Koproporphyrin erhalten hatte.

Nun könnte es aber leicht bemängelt werden, daß ich ammoniakalkoholische Lösungen mit den mit n/10 KOH bereiteten Lösungen anderer Farbstoffe vergleiche, zumal da *Schumm* an ammoniak-alkoholischen Hämatoporphyrin- und Mesoporphyrinlösungen wesentlich andere, nachfolgend zusammengestellte Absorptionsstreifen als an den entsprechenden Lösungen in n/10 KOH erhalten hatte:

Hämatoporphyrin [2])	Mesoporphyrin [3])	Hämatoporphyrin [2])	Mesoporphyrin [3])
bei 621 $\mu\mu$	bei 619,6 $\mu\mu$	bei 530,5 $\mu\mu$	bei 529,5 $\mu\mu$
„ 595,5 „	„ 594 „	„ 503,7 „	„ 502,5 „
„ 576,2 „	„ 575 „	„ 497 „	„ 496 „
„ 566 „	„ 565 „	„ 470 „	„ 469 „

Nur ist zu bedenken, daß *Schumm* zur Bereitung dieser seiner Lösungen 99 ccm 98proz. Alkohols verwendet hat, zu denen er 1 ccm wässeriger Ammoniaklösung (spezifisches Gewicht 0,96) hinzufügte; ferner wurde in diesem Gemisch nicht freies Porphyrin, sondern das Chlorhydrat gelöst. Diese Spektra können, wenn man sie mit dem weiter unten mitzuteilenden alkalischen und sauren Spektren vergleicht, auch so aufgefaßt werden, daß sie (z. B. am Hämatoporphyrin) sowohl Absorptionsstreifen der alkalischen Lösung, 621, 566, 503,7, als auch solche der sauren Lösung, 595,5 und 576,2, enthalten, natürlich nebst anderen neueren Streifen.

Hingegen enthielt die von mir bereitete Lösung, ohne daß ich deren relativen Alkohol- bzw. Ammoniakgehalt genau angeben könnte, unverhältnismäßig mehr starken wässerigen Ammoniak (und entsprechend weniger Alkohol), so daß sie füglich mit den *Schumm*schen alkalischen Lösungen in KOH verglichen werden kann. Zu diesem Vergleiche dient die nachstehende Zusammenstellung:

	Meso-porphyrin	Hämato-porphyrin	Kopro-porphyrin	*Hári*		Uro-porphyrin
				Präparat I	Präparat III	
I	629 und 617	618,5	617,5	616	616	611,3
II	— [4])	566	565,5	565	562	559,3
III	— [4])	541	538,3	536	535	538,4
IV	— [4])	504	503,3	501	—	501,8

[1]) *O. Schumm*, H. 98, 171, 1916. — [2]) *Derselbe*, H. 90, 15, 1914. — [3]) *Derselbe*, H. 90, 23, 1914. — [4]) Bezüglich der übrigen Maxima ist bei Mesoporphyrin in der betreffenden Tabelle angegeben, daß „Form und Ort etwas schwankend" sind. An einer anderen Stelle (H. 90, 29, 1914) sagt derselbe Autor bezüglich dieser Maxima, daß „. . . Anordnung, Form und Intensitätsverhältnisse je nach dem Gehalt der Lösung an Kaliumhydroxyd und ihrer Behandlung (Lufteinwirkung) wechseln".

Aus dieser Zusammenstellung, in der die Farbstoffe so geordnet sind, daß das Absorptionsmaximum eines jeden folgenden Farbstoffs weiter nach Violett gelegen, also durch kleinere Wellenlängen gekennzeichnet ist, geht namentlich, wenn man die spektrale Lage des ersten in Rot gelegenen Maximums betrachtet, unzweifelhaft hervor, daß der von mir beschriebene Farbstoff weder Meso-, noch aber Uroporphyrin gewesen sein kann. Von den beiden anderen Farbstoffen, dem Hämato- und dem Koproporphyrin ist es aber *letzteres*, dem der von mir isolierte Farbstoff am nächsten steht[1]), so daß mit großer Wahrscheinlichkeit angenommen werden darf, daß es sich auch in diesem seinem Ursprunge nach (wie ich seinerzeit berichtete) nicht geklärten Falle von Porphyrinurie um *Koproporphyrin* gehandelt hatte.

Diese Annahme wäre zur unbedingten Sicherheit geworden, wenn der von mir isolierte Farbstoff auch in salzsaurer Lösung mit dem Koproporphyrin übereingestimmt hätte, was aber, wie aus nachstehender Zusammenstellung ersichtlich, durchaus *nicht der Fall war*. Ich führe die auf die vier genannten Porphyrine bezüglichen Daten hier in der Reihenfolge an, wie sie in der Mitteilung von *Schumm* geordnet sind; in den drei letzten Stäben sind die von mir erhaltenen Daten enthalten:

	Uro-porphyrin $\mu\mu$	Hämato-porphyrin $\mu\mu$	Kopro-porphyrin $\mu\mu$	Meso-porphyrin $\mu\mu$	*Hári* B*) Präp. I $\mu\mu$	B*) Präp. III $\mu\mu$	C**) Präp. I $\mu\mu$
I	596,7	595,3	593,1	592,7	595	—	595
II . . .	577	574,5	573,5	572,5	—	—	—
—	—	—	—	—	559	559	562
III . . .	553,4	552,0	549,9	549,7	—	—	—
IV . . .	526,3	526	524,5	524,0	528	524	527
V . . .	511,8	511	509,3	509	—	—	—

*) B = Alkoholisch-ammoniakalische Lösung nach Übersäuerung mit HCl.
**) C = Alkoholisch-salzsaure Lösung des durch Ammoniak erzeugten Niederschlages.

Aus dieser Zusammenstellung ist klar zu ersehen, daß in der salzsauren Lösung des von mir isolierten Porphyrins das sehr schwach angedeutete erste Maximum[2]) und das sehr deutliche vierte[3]) Maximum

[1]) Der „... stellenweise vorzüglichen Übereinstimmung zwischen *Lewin*, *Miethe* und *Stengers* und meinen Befunden ...", die ich seinerzeit (l. c., S. 346) hervorgehoben habe, muß ich diese Bedeutung heute absprechen, zumal jene Angaben aus dem Jahre 1907 herrühren und uns zurzeit die weit verläßlicheren Daten von *Schumm* aus den Jahren 1914 und 1916 zur Verfügung stehen.

[2]) Siehe meine Kurven, l. c, S. 347 und 349.

[3]) Meine seinerzeitige Angabe (l. c., S. 348): „Ein starkes Maximum fand sich an Präparat I bei 528 $\mu\mu$, an Präparat III bei 524 $\mu\mu$, also an einer Stelle, wo die überwiegende Mehrzahl der Autoren bisher kein Absorptionsmaximum gefunden hatte (nur von *Ellinger* und *Riesser* ist in einem Falle

nahezu an derselben Spektralstelle gelegen sind, wie an den vier anderen Porphyrinen bei *Schumm*. Hingegen *fehlen bei mir das zweite und dritte* Maximum, und findet sich an ihrer Stelle ein dazwischen, bei etwa 559 bzw. 562 $\mu\mu$ gelegenes Maximum, das von den beiden genannten so weit entfernt ist, daß es sich hier keineswegs um einen Ablesungsfehler handeln kann.

Die Ursache dieser Unstimmigkeit glaube ich in folgendem, bereits von *H. Fischer* betonten Umstande gefunden zu haben. Es tritt nämlich nach diesem Autor[1]), wenn der Barytniederschlag mit Salzsäure und Alkohol behandelt wird, *Veresterung des Porphyrins* ein; an einer anderen Stelle[2]) sagt derselbe Autor, daß die widersprechenden Angaben verschiedener Autoren über die Löslichkeit des aus dem Harn dargestellten Porphyrins von der Art seiner Darstellung verursacht werden, indem „... nach der Niederschlagung des Farbstoffs auf irgend eine Weise dieser wieder mit Alkohol-Mineralsäure in Lösung gebracht wurde. Hierdurch trat partielle Veresterung ein, ...“. So wie durch die partielle Veresterung eine mehr oder minder starke Änderung in der Löslichkeit der Präparate verursacht werden kann, ist es sehr plausibel, anzunehmen, daß auch eine qualitative (und quantitative) Änderung in seiner Lichtabsorption erfolgt ist; daher ich also *kein reines, sondern mit dem Äthylester verunreinigtes* Porphyrin in salzsaurer Lösung untersucht hatte.

Da muß man sich aber wieder fragen: Wie kommt es, daß mein mit Alkohol und Salzsäure verriebener Farbstoff, wenn er hierbei eine Veresterung erlitten hat, in der alkalischen (ammoniakalischen) Lösung ein mit den Porphyrinen im allgemeinen gut übereinstimmendes, mit dem Koproporphyrin speziell vorzüglich übereinstimmendes spektrales Verhalten zeigte? Die Antwort ist einfach die, daß in dieser Versuchsreihe A[3]) die Einwirkung von Alkohol und Salzsäure auf den Farbstoff eine überaus kurze gewesen ist, da sofort nach dem Verreiben des Niederschlages mit dem salzsauren Alkohol die Flüssigkeit filtriert und mit starkem Ammoniak im Überschuß versetzt wurde. Während dieser kurzen Zeit konnte der Ester kaum in nennenswerter Menge gebildet worden sein; wohl war aber dies in den beiden weiteren Serien B[4]) und C[5]) der Fall, wo die alkoholisch-ammoniakalische Lösung

---

von Trionalvergiftung unter anderen auch ein sehr schwacher Streifen bei 527 beschrieben, ist dahin richtigzustellen, daß dieses Maximum zwar von *H. Fischer* im Jahre 1916 (H. **96**, 180, 1916; **97**, 125, 1916) nicht, wohl aber von *Schumm* bereits im Jahre 1914 (H. **90**, 9 und 16, 1914) gesehen wurde.

[1]) *Hans Fischer*, H. **95**, 44, 1915.

[2]) *Derselbe*, H. **97**, 152, 1916.

[3]) l. c., S. 345.

[4]) l. c., S. 346.

[5]) l. c., S. 348.

wieder mit Salzsäure übersättigt bzw. der durch Ammoniak niedergeschlagene Farbstoff in Alkohol und starker Salzsäure gelöst wurde, und nun der Farbstoff stundenlang vor und während der Untersuchung der Einwirkung von Alkohol und Salzsäure ausgesetzt war.

Da auf diese Weise der in der salzsauren Lösung erhobene Befund *nicht gegen* Koproporphyrin spricht, das spektrale Verhalten der ammoniakalischen Lösung aber deutlich auf die Anwesenheit von Koproporphyrin hinweist, darf wohl mit größter Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß *auch in diesem* (seiner Ätiologie nach ungeklärten) *Falle von Porphyrinurie im Harn Koproporphyrin ausgeschieden wurde.*

Über die blutzuckerherabsetzende Wirkung von Pflanzenextrakten und Oxydasen sowie den Nachweis von Fermenten im Insulin.

Von

Erhard Glaser und **Lazar Wittner.**

(Aus dem chemischen Laboratorium des pharmakognostischen Instituts der Universität Wien.)

(Eingegangen am 1. August 1924.)

Der hohe Preis des Insulins, die unter Umständen schwierige Beschaffung desselben, die Unzulänglichkeiten, die sich bei der Herstellung ergeben können, haben schon frühzeitig bewirkt, sich umzuschauen, ob nicht in der Natur Ersatzstoffe für dasselbe zu finden seien. Die ersten Bestrebungen in dieser Hinsicht gingen von *Collip* (1), *Warner* und *Dixon*, *Winter* und *Smith* (2) aus, denen es gelang, aus Hefe, Lattich, Zwiebelkraut und Rasengras Extrakte herzustellen, die, normalen Kaninchen injiziert, bei diesen den Zustand der Hypoglykämie herbeizuführen imstande waren.

Es lagen derartige Versuche nahe, weil ja die Assimilation und Dissimilation der Kohlenhydrate auch in der Pflanzenwelt eine große Rolle spielt, somit zweifellos in dieser Richtung wirksame Agenzien vorhanden sein müssen, andererseits aber auch Hefen, z. B. bei der Behandlung des Diabetes nach Angaben einiger Kliniker, vielfach und schon lange mit gutem Erfolge im Gebrauche standen.

Collip (1) konnte mit Injektionen von Zwiebelkrautextrakten einen pankreaslosen Hund 60 Tage frei von Glucosurie am Leben erhalten. Wird hypoglykämisches Blut einem Kaninchen im Reaktionsstadium entnommen und das Serum einem gesunden Tiere injiziert, so tritt auch beim zweiten Tiere nach einigen Tagen ein hypoglykämisches Stadium ein. Die mit Serum sowohl als auch mit Extrakt geimpften Tiere zeigen einen großen Hunger, verlieren an Gewicht und gehen öfter hypoglykämisch ein. Als bemerkenswert wurde dabei hervorgehoben, daß die Hypoglykämie in mehreren Fällen erst nach einigen Tagen auftritt. *Collip* nannte dieses Prinzip Glucokinin und glaubte,

daß es vom Insulin verschieden wirkt, spricht sich aber über den Wirkungsmechanismus nicht aus. Klinische Versuche wurden bisher keine ausgeführt.

War es schon auffällig, daß bisher für indifferent geltende Pflanzenextrakte blutzuckerherabsetzend wirken, so war die Mitteilung *Singers* (3) nicht ohne Interesse, welcher durch Proteinkörperzufuhr den diabetischen Stoffwechsel in derselben Richtung beeinflussen konnte. Er dachte dabei an eine durch Proteinkörper hervorgerufene Umstimmung und Leistungssteigerung bei einer besseren und lebhafteren Verbrennung des Glykogens auf der Verbrauchsseite in den peripheren Geweben und in der Muskulatur und stützte sich auf das rasche Angreifen der Gewebsumstimmung und den reaktionslosen Ablauf der Proteinkörperbehandlung bei den Diabetikern, die bei knapper Ernährung eine häufig beobachtete Körpergewichtszunahme zeigen. Es wäre dies eine Annahme, die im Sinne einer besseren Verwertung also Verbrennung der Kohlenhydrate sprechen würde. Ebenso müßte auch die von *A. Gottschalk* (4) gefundene Tatsache gewertet werden, daß die oxydoreduktiven Prozesse in Leber und Muskelzellen bei Caseosaninjektionen gegen die Norm gesteigert sind, was mit einer Zunahme der Gewebsatmung von Leber und Muskelzellen erklärt wird. Die Proteinkörpertherapie hätte nach *Singer* demnach die Dauerhaftigkeit der Wirkung und die auffallend rasche Umstimmung vor dem Insulin voraus, welch letztere die überstürzte Zuckermobilisierung dämpfen soll. In letzter Zeit haben *C. H. Best* und *A. Scott* (2) aus Kartoffeln, Reis, Weizen, Sellerie, Rübenwurzel durch Ausziehen mit 0,35proz. salzsäurehaltigem 70- bis 80proz. Alkohol neuerlich blutzuckerherabsetzende Extrakte hergestellt.

Wenn wir die Pflanzen, aus denen bisher derartige Stoffe extrahiert wurden, näher betrachten, so sind es in der Regel rasch wachsende und junge Pflanzen, die auch noch dadurch ausgezeichnet sind, daß sie einen relativ außerordentlichen Stärkereichtum besitzen. Gleich hier soll aber auch erwähnt werden, daß allen diesen pflanzlichen Substanzen auch ein gewisser Fermentgehalt nachgesagt wird, insbesondere eine Oxydationsbeschleunigung autoxydabler Substanzen. *Batelli* und *Stern* (5) führen eine große Anzahl von Pflanzen und ihre Untersucher an, welche diesbezügliche Angaben machen. Es ist leicht einzusehen, daß hier die Möglichkeit von Zusammenhängen mit dem Insulin bestehen können. Bei letzterem hat ja *Erh. Glaser* (6) in einem kritischen Referat über den gegenwärtigen Stand der Insulinfrage schon darauf hingewiesen, daß aus verschiedenen Umständen auf einen Fermentcharakter desselben geschlossen werden kann. Jedenfalls scheinen diesbezügliche Versuche sicher aktuell, vor allem um zu sehen, ob sich dabei nicht neue Gesichtspunkte ergeben würden, zumal die theoretische

Insulinforschung der Amerikaner sich in letzter Zeit mehr in chemischer Richtung bewegt, die biologische Seite jedoch beinahe ganz unberücksichtigt gelassen hat.

Experimenteller Teil.

Zunächst wurden Pflanzenextrakte hergestellt, und zwar ähnlich, wie *Collip* (1) seine Extrakte herstellte, weiter solche entsprechend der Vorschrift des Insulinkomitees von *Toronto*, endlich solche, wie sie *Best* und *Scott* (2) bei ihren Auszügen anwendeten, d. h. mit salzsäurehaltigem Alkohol extrahiert. Die Art und Weise ist bei den einzelnen Versuchen genauer angegeben. Zur Bearbeitung herangezogen wurden Champignonpilze und Rüben, welch letztere wegen ihres Zuckerreichtums für diese Zwecke besonders geeignet sind. Es handelte sich zunächst darum, ob und in welchen Mengen sich derartige blutzuckerherabsetzende Substanzen in denselben nachweisen ließen.

Versuch mit Champignonpilzen und Rüben.

1. Versuch. 29. Januar 1924.

Erstes männliches Kaninchen, Gewicht 2015 g, wurde mit 25 ccm eines Champignonextraktes, der folgendermaßen dargestellt war, injiziert.

300 g frisch gepflückte, sorgfältig gereinigte Champignonpilze wurden mittels einer zuvor steril gemachten Fleischhackmaschine fein zermahlen. Die auf diese Weise gewonnene Masse veränderte bald ihr Aussehen an der Luft, indem sie sich stark dunkelbraun färbte. Sie wurde mit der fünffachen Menge 96proz. Alkohols versetzt und unter häufigem Umrühren durch 36 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehengelassen. Die überstehende dunkelgefärbte Flüssigkeit wurde nun filtriert und der Rückstand, um die Extraktion möglichst vollständig zu machen, abermals mit der gleichen Gewichtsmenge 96proz. Alkohols versetzt, durch weitere 36 Stunden stehengelassen. Nach erfolgter Filtration und Auspressung des Rückstandes wurden die auf diese Weise gewonnenen Filtrate im Vakuum bei einer Temperatur zwischen 18 bis 25° eingeengt.

Mit dem Verdampfen des Alkohols aber schied sich eine reichliche Menge fester Substanz aus, welche zum Teil auf der Flüssigkeit schwebte und an der Wand des Eindampfgefäßes festhaftete, zum anderen Teil sich am Boden des Gefäßes abschied. Der mikroskopische Befund ergab eine Reihe von Kristallen, die in Form von Nadeln teils vereinzelt, teils zu Büscheln vereinigt waren. Von diesen wurde nun abfiltriert und das Filtrat in zwei gleiche Teile geteilt.

A. Der eine von diesen wurde nun mit dem gleichen Volumen von Alkohol behandelt und im Vakuum bei einer Temperatur von 20 bis 25° so lange eingeengt, bis kein Alkohol mehr überging. Das auf diese Weise konzentrierte Volumen betrug 30 ccm; 25 ccm davon wurden nun obigem Kaninchen subkutan ohne Verlust injiziert. Das injizierte Volumen entsprach 125 g Champignonpilzen.

Reaktionen auf Eiweiß und Fett, mit *Millons* Reagens einer-, und Sudanlösung andererseits waren negativ. Der Blutzucker wurde nach der Mikromethode nach *Bang* bestimmt.

Die Blutzuckerkontrolle war 0,127.

29. I.	12h 30′	Blutzucker	0,127
29. I.	4 30	„	0,100
30. I.	2 30	„	0,10
31. I.	11 30	„	0,098
31. I.	3 30	„	0,12
1. II.	12 30	„	0,089
1. II.	5 00	„	0,13

Das Tier wurde im gesunden Zustande in das Gehege zurückgebracht. Eine am 8. Februar gemachte Blutzuckeruntersuchung ergab die Menge von 0,125 Proz. Blutzucker.

2. Versuch. 13. Februar 1924. 175 g Champignon.

B. Der andere Teil wurde gleichfalls mit dem gleichen Volumen 96proz. Alkohols behandelt und im Vakuum bei einer Temperatur von 20 bis 25° bis zur Paste eingeengt. Letztere wurde nun so lange im Scheidetrichter mit Äther gewaschen, als die Ätherschicht sich noch färbte. Sobald dies nicht mehr der Fall war, wurde nun zur Lösung solange 80proz. Alkohol zugesetzt, als noch eine Fällung eintrat. Hierauf wurde zentrifugiert und die klare Lösung vom Abgesetzten abgehebert. Das auf diese Weise gewonnene Volumen betrug 40 ccm. Es wurde nun mit absolutem Alkohol so lange versetzt, bis der Prozentgehalt des letzteren auf 93 Proz. gestiegen war. Schon auf Zusatz der ersten Tropfen absoluten Alkohols schied sich eine reichliche Menge weißer Substanz aus, die sich auf weiterem Alkoholzusatz rasch vermehrte. Die Lösung wurde über Nacht stehengelassen.

Am Morgen des folgenden Tages hatte der Niederschlag sein ursprüngliches Aussehen verändert, indem er eine dunkelbraune Farbe angenommen hatte. Er haftete so fest am Boden und Rande des Gefäßes, daß die Flüssigkeit bequem abgegossen werden konnte. Der Rückstand wurde nun in 10 ccm Wasser gelöst und durch ein Berkefeldfilter, welches zuvor durch Ausglühen steril gemacht wurde, filtriert. Mit 5 ccm Wasser wurde nachgespült. Der auf diese Weise keimfrei gemachte Extrakt wurde nun einem Kaninchen von 2200 g Gewicht am 13. Februar subkutan ohne Verlust injiziert. Das injizierte Volumen betrug 12 ccm entsprechend 175 g Champignonpilzen. Die Reaktionen auf Eiweiß und Fett waren negativ.

Blutzuckerkontrolle 0,142.

13. II.	3h 30′	Blutzucker	0,142
13. II.	3 48	„	0,114
14. II.	3 00	„	0,100
14. II.	7 00	„	0,100
15. II.	11 30	„	0,123
15. II.	4 00	„	0,098
16. II.	11 00	„	0,140
17. II.	11 00	„	0,140

Das Tier wurde in anscheinend normalem Zustande in das Gehege zurückgestellt.

3. Versuch. 27. Februar 1924.

Drittes Kaninchen, Weibchen, 2500 g schwer, wurde mit 35 ccm eines Champignonextraktes, welcher folgendermaßen dargestellt wurde, injiziert.

755 g frisch gepflückte und gereinigte Champignonpilze wurden nach dem Zerkleinern mit einer zuvor steril gemachten Fleischhackmaschine

zunächst mit 2 Liter 96proz. Alkohols behandelt und unter häufigem Umrühren durch 40 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehengelassen. Die dunkelgefärbte, überstehende Flüssigkeit wurde hierauf filtriert und der Rückstand mit weiteren 1000 ccm 96proz. Alkohols und 5 ccm konzentrierter 36proz. Salzsäure behandelt, wodurch der größte Teil der vorhandenen Eiweißstoffe zur Fällung gebracht wurde. Nach Filtration der überstehenden Flüssigkeit wurde der Rückstand mit weiteren 500 ccm Alkohol versetzt und gleich filtriert. Die auf diese Weise erhaltenen Filtrate wurden nun im Vakuum bei einer Temperatur von 18 bis 25° zur Sirupkonsistenz eingeengt. Die weitere Behandlung des Extraktes erfolgte analog dem Versuche 2.

Das injizierte Volumen betrug 35 ccm und wurde obigen Kaninchen am 27. Februar subkutan ohne Verlust injiziert.

Blutzuckerkontrolle 0,144.

27. II.	12h 30′	Blutzucker	0,144
27. II.	1 30	„	0,148
27. II.	2 30	„	0,135
27. II.	4 30	„	0,136
28. II.	12 00	„	0,142
28. II.	3 30	„	0,132
29. II.	12 30	„	0,14
29. II.	3 30	„	0,142
30. II.	10 00	„	0,144

Das Tier zeigte unmittelbar nach der Injektion, sowie einige Tage später keine auffallende Veränderung.

4. Versuch. 29. Mai 1924.

Viertes Kaninchen, Gewicht 3248 g wurde mit 60 ccm eines Runkelrübenextraktes, welcher wie folgt dargestellt wurde, injiziert.

2570 g gereinigte Runkelrüben wurden mit einer zuvor sterilisierten Fleischhackmaschine zerkleinert. Infolge des großen Wassergehaltes obigen Materials, erhielt man bald einen dünnflüssigen Brei, der auch nach einigem Stehen an der Luft sein Aussehen nicht merklich veränderte. Zu diesem wurden nun zwecks Extraktion mit Alkohol zunächst 2 Liter 96proz. Alkohols hinzugefügt und diese Mischung in einem Kolben bei gewöhnlicher Temperatur durch 36 Stunden stehengelassen. Hierauf wurde vom Rückstand abfiltriert und letzterer mit weiteren 2 Litern 96proz. Alkohols versetzt und durch mehrere Tage stehengelassen. Nach erfolgter Filtration wurden dann die vereinigten Filtrate im Vakuum bei einer Temperatur von 18 bis 25° bis zur Sirupkonsistenz eingeengt.

Das so erhaltene Produkt wurde nun auf Fett, Eiweiß und Kohlenhydrate geprüft. Ersteres ergab eine negative Reaktion, hingegen waren die Eiweiß- und Kohlenhydratreaktionen, insbesondere letztere, stark positiv. Es mußte nun daran geschritten werden, das wirksame Prinzip möglichst frei von Kohlenhydraten zu gewinnen, andererseits die Ausbeute an wirksamer Substanz nicht allzu sehr zu verringern. Wir erreichten dies mit Hilfe der fraktionierten Fällung aus Alkohol. Zu diesem Zwecke wurden nun zum Einengungsrückstand zunächst so viel Alkohol zugesetzt, bis die Konzentration des letzteren 60 Proz. erreichte. Alsbald schied sich ein Teil der Kohlenhydrate, des Eiweißes und der anorganischen Salze aus, während das wirksame Prinzip praktisch in Lösung blieb. Vom Ausgeschiedenen wurde

nun abfiltriert und das Filtrat im Vakuum bei 18 bis 25° neuerdings bis zur Sirupkonsistenz eingeengt. Hierauf wurde die Fällung neuerdings in 70proz. Lösung ausgeführt und diese Operation im gleichen Sinne mit 80-, 85-, 88- und sodann in 94proz. alkoholischer Lösung durchgeführt, wobei die Fällungsgrenzen des Insulins genau beachtet wurden. Im letzten Falle sollte sich somit dem Insulin gemäß auch das aktive Prinzip vollkommen abscheiden. Nach erfolgter Filtration wurde der Rückstand in möglichst wenig Wasser gelöst und zwecks Reinigung neuerdings mit absolutem Alkohol in 95proz. Lösung gefällt. Es gelang auf diese Weise, ein Produkt zu gewinnen, das mit *Millons* Reagenz keine Eiweißreaktion zeigte und mit *Fehling*scher Lösung eine ganz minimale Reduktion wahrnehmen ließ. Dieses wurde nun in 60 ccm Wasser gelöst und 56 ccm davon obigem Kaninchen, Weibchen, am 29. Mai subkutan ohne Verlust injiziert.

Blutzuckerkontrolle 0,136.

29. V.	11h 00' vorm.	Blutzucker . .	0,136
29. V.	12 00	„ „ . .	0,136
29. V.	1 00	„ . .	0,098
29. V.	3 00	„ . .	0,100
30. V.	10 00	„ . .	0,134
30. V.	4 00	„ . .	0,110
1. VI.	12 00	„ . .	0,135
1. VI.	3 30	„ . .	0,135
2. VI.	11 00	„ . .	0,137
2. VI.	2 30	„ . .	0,134

Das Tier war unmittelbar nach der Injektion apathisch, erholte sich nach einigen Stunden und hatte dann Heißhunger. Am 1. Juni wurde es dann scheinbar normal wieder in das Gehege zurückgestellt.

Aus diesen Versuchen ergibt sich demnach, daß tatsächlich sich auch in Champignonpilzen und Runkelrüben blutzuckerherabsetzende, offenbar den von *Collip*, *Best* und *Scott* gefundenen analoge Stoffe vorhanden sind. Die Blutzuckerherabsetzung entsprach ungefähr den von *Collip* angegebenen Zahlen, steigt mit der Menge des injizierten Extraktes, wobei es scheinbar ganz gleichgültig ist, ob der Extrakt auf die von *Collip* angegebene oder nach der Torontovorschrift des Insulins gemacht wurde. Säurezusatz zum Extraktionsmittel scheint zu schädigen, denn der auf diese Weise hergestellte Champignonextrakt erwies sich als unwirksam. Dieser Umstand gab uns zur Vermutung Anlaß, daß es sich bei diesen blutzuckerherabsetzenden Stoffen in den Pflanzen um Fermente handelt, von denen ja bekannt ist, daß sie durch Säuren, insbesondere Mineralsäuren, zerstört werden. Hierzu kommt noch, daß auch die Darstellungsweise der vorgenannten Substanzen denen der Fermente im allgemeinen ähnelt. Schon *Batelli* und *Stern* (5) weisen in ihrem ausgezeichneten Referate darauf hin, daß in den jungen empfindlichen Organen des Tier- und Pflanzenreiches besonders eine Gattung von Fermenten, nämlich die Oxydasen in denselben, vorkommen, welche Körper ja bei allen organischen Verbren-

nungen eine Rolle spielen. In der Tat sind auch fast bei allen bisher auf blutzuckerherabsetzende Stoffe untersuchten Pflanzen Peroxydasen bereits früher, allerdings nicht in diesem Zusammenhange nachgewiesen worden. So fanden *Lehmann* und *Sano* (7) in Kartoffeln und Weizenkörnern, *Ernest* und *Berger* (8) in der Zuckerrübenrinde, *Pringsheim* (8) in den verschiedenen Pilzarten, *Grüss* (10) in der Hefe und im Hefepreßsaft, *Brocz Rousseau* und *Gain* (11) in Getreidekörnern noch nach mehr als 100 Jahren aktive Fermentprinzipe, insbesondere Oxydasen. Es wurden daher Versuche unternommen, ob nicht mit aus Pflanzen hergestellten Fermenten direkt der Blutzucker beim Kaninchen herabgesetzt werden könnte.

Versuche mit Fermenten.

Von den Fermenten, welche an den in der lebenden Zelle sich abspielenden Oxydationsprozessen positiv oder negativ beteiligt sind, wurden Versuche mit Peroxydase aus Meerrettich, Katalase aus Schafsleber und Tyrosinase aus Champignonpilzen gemacht. Die Art der Darstellung, die im großen und ganzen nach *Abderhalden* (12) vorgenommen wurde, ist bei den einzelnen Versuchen angegeben. Bei der Katalase und Peroxydase wurde die Wertbestimmung vorgenommen.

5. Versuch. 14. März 1924.

Fünftes Kaninchen, Weibchen, Gewicht 3248 g, wurde mit 60 ccm Champignonextrakt (Tyrosinase) injiziert. Dieselbe wurde auf die Weise hergestellt, daß 700 g Champignonpilze nach vorhergegangener Reinigung mit einer Fleischhackmaschine fein zerkleinert wurden. Die gewonnene Masse wurde stark gepreßt und der Preßsaft in die fünffache Menge 96proz. Alkohols direkt einfließen gelassen. Es schied sich sogleich eine große Menge fester Substanzen aus. Von diesen wurde rasch abfiltriert, das Filtrat entfernt und der Rückstand in Wasser unter Zusatz von 2proz. Toluol durch 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur digeriert. Hierauf wurde vom Ungelösten abfiltriert, das Filtrat im Vakuum auf ein geringes Volumen konzentriert und mit einigen Voluminis 96proz. Alkohols behandelt. Der ausfallende Niederschlag wurde nun absitzen gelassen, die überstehende Flüssigkeit dekantiert, der Rückstand in möglichst wenig Wasser gelöst, durch Zusatz einer Spur Trikresollösung steril gemacht und 40 ccm davon einem 2½ kg schweren Kaninchen subkutan ohne Verlust injiziert.

Blutzuckerkontrolle 0,142.

14. III.	2h 30′	Blutzucker	0,142
14. III.	3 30	,, ...	0,146
14. III.	6 00	,, ...	0,138
15. III.	12 00	,, ...	0,102
15. III.	4 00	,, ...	0,100
16. III.	12 00	,, ...	0,094
17. III.	12 00	,, ...	0,111
17. III.	4 00	,, ...	0,118
18. III.	11 00	,, ...	0,100

Unmittelbar nach der Injektion war das Tier lahm und lag mit schlaffen Muskeln auf einer Seite. Nach einiger Zeit genas es, war aber sehr unruhig. Am 18. März wurde das Tier in scheinbar normalem Zustande dem Gehege zurückgestellt.

6. Versuch. 30. März 1924.

Sechstes Kaninchen, Weibchen, 2900 g Gewicht, wurde mit einem Schafsleberextrakt (Katalase), welche auf folgende Weise hergestellt war, injiziert.

300 g Schafsleber, welche dem Tiere unmittelbar nach dem Tode entnommen wurde, wurden mittels einer Fleischhackmaschine fein zermahlen. Die rotbraun gefärbte, dicke Masse wurde hierauf mit der gleichen Gewichtsmenge Chloroformwasser durch 36 Stunden mazerieren gelassen. Die rotbraune Flüssigkeit wurde hierauf abgepreßt, durch ein Tuch filtriert und mit dem vierfachen Volumen 94proz. Alkohols gemischt. Der entstandene Niederschlag wurde nun rasch filtriert und, bevor er trocken geworden war, auf eine poröse Tonplatte ausgebreitet und rasch über Schwefelsäure im Exsikkator getrocknet. Die Gewichtsmenge des auf diese Weise gewonnenen Pulvers betrug 11 g. Es wurden 9 g in 45 ccm Wasser gelöst, 39 ccm davon am 30. März obigem Kaninchen subkutan ohne Verlust injiziert.

Das Tier war unmittelbar nach der Injektion apathisch und lag auf einer Seite.

Blutzuckerkontrolle 0,137.

30. III.	12h 00′	Blutzucker	0,137
30. III.	1 00	„	0,125
30. III.	2 00	„	0,113
30. III.	4 00	„	0,097
31. III.	12 00	„	0,125
31. III.	3 30	„	0,118
1. IV.	10 00	„	0,124
1. IV.	2 00	„	0,128
2. IV.	11 00	„	0,136
2. IV.	3 30	„	0,144
3. IV.	11 00	„	0,143
3. IV.	4 00	„	0,138

Das Tier wurde nachher im scheinbar gesunden Zustande dem Gehege zurückgestellt.

Die Bestimmung der katalytischen Kraft und somit des Wirkungswertes der verwendeten Katalase wurde auf die zersetzende Wirkung der Katalaselösung gegenüber einer 1proz. Hydroperoxydlösung geprüft und demgemäß berechnet.

In ein mit einer *Mohr*schen Bürette verbundenes Gefäß mit doppelten Hähnen und Röhren wurden 5 ccm einer Katalaselösung hineingebracht. Hierauf wurden durch das Öffnen eines dieser Hähne 30 ccm einer 1proz. Wasserstoffsuperoxydlösung zufließen gelassen. Unmittelbar nach der ersten Mischung beider Lösungen beobachtet man eine lebhafte Gasentwicklung, die von der durch die zersetzende Wirkung der Katalaselösung verursachte Abspaltung von Sauerstoff aus der Hydroperoxydlösung herrührt. Die freiwerdende Sauerstoffmenge wurde mittels eines in Verbindung stehenden Eudiometers nach 1, 2, 5 Minuten gemessen. Nach Ab-

lauf der Zeit wird der mit dem Eudiometer in Verbindung stehende Hahn geschlossen und durch Senken der Quecksilberkugel das entstandene Niveau genau abgelesen. Temperatur- und Druckbedingungen zu berücksichtigen, war infolge der kurzen Ausführungsdauer dieser Operation überflüssig.

1 g Rohkatalase wurde in 1000 ccm Wasser gelöst.

A. 5 ccm dieser Lösung setzten aus 30 ccm 1 proz. Wasserstoffsuperoxydlösung nach 1 Minute 12 ccm, nach 2 Minuten 15 ccm, nach 5 Minuten 18 ccm Sauerstoff in Freiheit, was für 1 g Katalase in diesem Falle sich nach 1 Minute mit 2400 ccm, nach 2 Minuten mit 3000 ccm, nach 5 Minuten mit 3600 ccm Sauerstoff beziffert.

B. 10 ccm derselben Lösung zersetzten nach 5 Minuten 30 ccm 1 proz. Wasserstoffsuperoxydlösung unter Freiwerden von 33 ccm Sauerstoff, entsprechend 3300 ccm Sauerstoff auf 1 g Katalase nach 5 Minuten.

7. Versuch. 24. April 1924.

Siebentes Kaninchen, Männchen, Gewicht 2850 g, wurde mit einem Meerrettichwurzelextrakt, der folgendermaßen hergestellt war, injiziert (Katalase).

3800 g Meerrettichwurzeln wurden nach vorhergegangener Reinigung fein zerkleinert. Die Masse wurde nun zwecks vollkommener Glykosidspaltung einige Zeit an der Luft stehengelassen, wobei sie sich schwach dunkel färbte. Die Masse wurde nachher in einen Kolben gebracht und mit 5 Liter 96 proz. Alkohols einige Tage unter häufigem Umschütteln bei gewöhnlicher Temperatur stehengelassen. Die überstehende Flüssigkeit hatte im Verlaufe der Zeit eine hellrote Farbe angenommen und enthielt die ätherischen Öle dieser Pflanze gelöst. Nachdem dieser Punkt erreicht war, wurde nun die gefärbte alkoholische Flüssigkeit abgegossen und der Rückstand mehrere Male mit 80 proz. Alkohol gewaschen, abgepreßt und sodann mit 7½ Litern 40 proz. Alkohols versetzt durch 5 Tage stehengelassen. Dann wurde die alkoholische Lösung abfiltriert und der Rückstand stark gepreßt. Zur Abscheidung der Oxydase wurde hierauf, um an Alkohol zu sparen, die gesamte alkoholische Flüssigkeit im Vakuum so lange bei einer Temperatur von 18 bis 25° eingeengt, bis das konzentrierte Volumen etwa ein Drittel der Gesamtflüssigkeit erreichte. Der Einengungsrückstand wurde hierauf so lange mit 96 proz. Alkohol behandelt, als noch eine Fällung eintrat. Nach dem Absitzen des Niederschlages wurde die alkoholische Lösung abgegossen und der Rückstand im Exsikkator vollständig getrocknet. Die Ausbeute an dieser Substanz betrug 24 g.

Die qualitativen Reaktionen auf Peroxydase waren stark positiv. Eine Spur dieser Substanz, in Wasser gelöst und mit Pyrogallussäure versetzt, gab auf Zusatz einer verdünnten Wasserstoffsuperoxydlösung sogleich eine starke Dunkelfärbung unter Abscheidung von Purpurogallin. Dasselbe Verhalten zeigte die Substanz auch gegenüber einer Phenol- und Kresollösung. Beide zeigten die für die Peroxydase charakteristischen Farbenreaktionen.

Die Substanz wurde in 170 ccm Wasser gelöst und 50 ccm davon obigem Kaninchen am 24. April subkutan injiziert.

Blutzuckerkontrolle 0,128.

24. IV.	12h 30′	Blutzucker	0,128
24. IV.	1 30	„	0,125
24. IV.	3 30	„	0,100
24. IV.	4 30	„	0,087
25. IV.	12 30	„	0,12
25. IV.	5 30	„	0,118
26. IV.	10 00	„	0,13
26. IV.	3 00	„	0,120
27. IV.	12 00	„	0,130

Das Tier blieb unmittelbar nach der Injektion munter und zeigte erst nach einiger Zeit eine wesentliche Verstimmung. Am 28. April wurde es in scheinbar gesundem Zustande dem Gehege wieder zurückgestellt.

8. Versuch. 25. April 1924.

Achtes Kaninchen, Gewicht 1900 g, wurde mit der im Verhältnis zum letzten Kaninchen berechneten dreifachen Menge desselben Extraktes injiziert. Das injizierte Volumen betrug 50 ccm.

Blutzuckerkontrolle 0,132.

25. IV.	12h 30′	Blutzucker	0,132
25. IV.	1 30	„	0,103
25. IV.	2 15	plötzlicher Tod des Tieres.	

Eine Blutprobe unmittelbar nach dem Tode dem Herzen entnommen, zeigte den Blutzuckerstand von 0,065. Das Tier war unmittelbar nach der Injektion lahm und lag auf einer Seite. Diesen Zustand bewahrte es bis zum Eintritt des Todes. Der Obduktionsbefund ergab keine wesentliche Veränderung der Organe.

9. Versuch. 28. April 1924.

Neuntes Kaninchen, Gewicht 1950 g, wurde mit der doppelten Menge desselben Extraktes in bezug auf Kaninchen 7 injiziert. Das injizierte Volumen betrug 14 ccm. Das Tier war unmittelbar nach der Injektion lahm und apathisch und blieb in diesem Zustande durch 2 Tage hindurch. Nachher erholte es sich.

Blutzuckerkontrolle 0,142.

28. IV.	11h 00′	Blutzucker	0,142
28. IV.	1 00	„	0,121
28. IV.	2 00	„	0,107
28. IV.	4 00	„	0,092
29. IV.	1 00	„	0,105
29. IV.	4 00	„	0,115
30. IV.	10 00	„	0,123
30. IV.	4 00	„	0,125
1. V.	10 00	„	0,137
1. V.	3 00	„	0,137

Zwecks Bestimmung der Aktivität und hiermit des Wirkungswertes der Peroxydase wurde ihr Verhalten gegenüber einer Lösung von Pyrogallussäure bei Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd angewendet. Zu diesem Zwecke wurde in 35 ccm Wasser 1 g völlig reine Pyrogallussäure gelöst und zu je zehn solcher Lösungen regelmäßig ansteigende Mengen

von Peroxydase und ein konstantes Volumen Wasserstoffsuperoxyd zugesetzt. Die Mischung wird auf 50 ccm verdünnt. Unmittelbar nach dem Zusatz der ersten Tropfen von Peroxydase färbt sich die Flüssigkeit dunkler, trübt sich nachher und scheidet einen Teil der Pyrogallussäure als Purpurogallin ab. Die hierzu verwendeten Gefäße werden durch 12 Stunden stehengelassen. Der ausgefallene Niederschlag wird auf zuvor gewogenen Filter gebracht, mit 50 ccm destillierten Wassers nachgewaschen, im Trockenschrank bei 105° getrocknet und hierauf gewogen.

In unserem Falle ergaben sich folgende Werte:

Nr.	Pyrogallol g	1 proz. H_2O_2 ccm	Peroxydase	Purpurogallin
1	1	10	0,01	0,0056
2	1	10	0,02	0,0114
3	1	10	0,03	0,0168
4	1	10	0,04	0,0228
5	1	10	0,05	0,0291
6	1	10	0,06	0,0332
7	1	10	0,07	0,0400
8	1	10	0,08	0,0452
9	1	10	0,09	0,0492
10	1	10	0,10	0,0540

Es entspricht also 0,10 Peroxydase 0,056 Purpurogallin.

Aus den Versuchen ist ersichtlich, daß jedes dieser drei Fermente geeignet ist, blutzuckerherabsetzend zu wirken. Es kann damit zweifellos eine solche erzielt werden, welche die gewisse für Hypoglykämie charakteristische Dösigkeit bzw. den Tod herbeizuführen imstande ist. Durch entsprechende Reinigung wird sich zweifellos diese Wirkung der genannten Fermente steigern lassen.

Versuche mit Eiweiß und Tyrosin.

Da der Einwand erhoben werden könnte, daß die blutzuckerherabsetzende Wirkung der genannten verwendeten Fermente auf ihren Eiweißgehalt zurückgeführt werden könnte, und zwar um so mehr, als bereits in der Einleitung hervorgehoben wurde, daß *Singer* eine durch Eiweißinjektionen zustandekommende blutzuckerherabsetzende Wirkung beobachtet haben wollte, so wurden auch in dieser Hinsicht Versuche unternommen.

10. Versuch. 6. Juli 1924.

Zehntes Kaninchen, Gewicht 3 kg, wurde mit 50 ccm einer Caseosanlösung, entsprechend 1,80 g fester Substanz, injiziert und der Blutzuckergehalt nach 1, 3, 4 Stunden bestimmt. Der Blutzucker vor der Injektion betrug 0,125, nach 1 Stunde 0,122, nach 3 Stunden 0,132, nach 4 Stunden 0,132 mg, an den folgenden 3 Tagen 0,137, 0,149 und 0,139 mg.

Trotz der großen Menge des zugeführten Eiweißes konnte also eine Blutzuckerherabsetzung nicht herbeigeführt werden. Das Resultat dieser Prüfung stimmt übrigens mit dem von *Singer* (3), sowie *L. Pollak, Löwy, Latzel* (13) gewonnenen überein. *Singer* selbst konnte übrigens

im Tierversuche nur bei Kombination mit Adrenalin eine Blutzuckerherabsetzung herbeiführen.

Aus demselben Grunde wurde noch ein der injizierten Tyrosinasemenge äquivalentes Quantum Tyrosin ebenfalls zur Injektion verwendet, um zu sehen, ob nicht durch das Tyrosin allein eine blutzuckerherabsetzende Wirkung herbeigeführt werden könnte.

Versuch mit Tyrosin.

11. Versuch.

Elftes Kaninchen, Gewicht 2 kg, wurde mit 0,20 g Tyrosin, das in 18 ccm Wasser emulgiert war, injiziert. Die erhaltenen Blutzuckerwerte betrugen vor der Injektion 0,132, 1 Stunde nachher 0,132, nach 3 Stunden 0,121, nach 4 Stunden 0,12 mg, an den folgenden 3 Tagen 0,135, 0,132 und 0,136 mg.

Es konnte demnach auch mit dem Tyrosin allein nur eine sehr geringe Blutzuckerherabsetzung bewirkt werden, was wohl als Beweis dafür angesehen werden kann, daß wohl dem biologischen Faktor im Ferment die Hauptwirkung auf den Blutzucker zugesprochen werden muß.

Versuche mit Insulin.

Nachdem in den vorhergehenden Versuchen es wahrscheinlich gemacht worden ist, daß die blutzuckerherabsetzenden Substanzen in den bisher daraufhin untersuchten Pflanzenextrakten in Oxydationsfermenten zu suchen sein werden, so war es naheliegend, das Insulin daraufhin anzusehen. Bekannt ist, daß die Wirksamkeit des Insulins durch 3 Minuten langes Kochen zerstört wird, wodurch ja auch Fermente zum Zugrundegehen gebracht werden können. Es wurde zunächst in qualitativer Weise der Nachweis versucht und hierzu das Insulin „Lilly" in den Kreis der Betrachtung gezogen.

Es wurden folgende Reaktionen mit dem Insulin angestellt:

1. Zu einer 1proz. Lösung von Orthokresol wurden einige Tropfen Insulin gegeben, hierauf 1 ccm 1proz. Wasserstoffsuperoxyds zugefügt, worauf die Lösung nach einiger Zeit eine gelbliche Färbung annahm. Ein gleichzeitiger Leerversuch fiel negativ aus.

2. Eine stark verdünnte Jodkaliumlösung wurde ebenfalls mit 2 bis 3 Tropfen Insulin versetzt, hierauf 1 Tropfen einer 1proz. Stärkelösung hinzugefügt und schwach angesäuert; nach einiger Zeit färbte sich die Lösung bläulich, um nachher eine intensivere Färbung anzunehmen.

3. Eine Spur Paraphenylendiamin und eine äquivalente Menge α-Naphthol wurden in Wasser gelöst und zu dieser Lösung Insulin und eine Spur NaOH hinzugegeben. Die Lösung färbt sich spontan violett, nach einiger Zeit blau. Infolge der leichten Oxydierbarkeit obiger Reagenzien tritt die Blaufärbung auch ohne Zusatz von Insulin beim bloßen Stehen an der Luft auf. Aus der Geschwindigkeit des Farbenauftritts und ihrer Intensität kann auf das Vorhandensein von größeren oder geringeren Mengen des betreffenden Oxydationsferments geschlossen werden. In alkoholischer Lösung verläuft die Reaktion noch deutlicher.

4. Pyrogallussäure in Wasser gelöst, mit H_2O_2 versetzt und 1 bis 2 Tropfen Insulin hinzugefügt, färbte sich dunkel, und nach einiger Zeit schied sich Purpurogallin aus.

5. Mit Hydrochinon in wässeriger Lösung gibt Insulin eine deutliche Trübung.

6. Guajakol bleibt durch Insulin unverändert.

7. Phenolphthalein wird durch Insulin merklich verändert, was durch Zusatz von Alkalien nach einiger Zeit erkenntlich wird.

Wenn wir diese Reaktionen überblicken, so sehen wir, daß sie den Peroxydasen eventuell Phenolasen, welche übrigens ja auch nur Gemische von Peroxydasen und Peroxyden sein dürften, zukommen. Wir wissen aus den zahlreichen Untersuchungen von pflanzlichen Oxydasen, daß die verschiedenen einzelne, aber nicht alle Reaktionen geben. *Raciborski* (14) fand im Aspergillus niger eine Oxydase, die weder Guajak, noch Hydrochinon, noch Tyrosin, wohl aber Jodwasserstoffsäure oxydiert. Nach *Reinitzer* (15) oxydiert Gummi arabicum die Polyphenole, während es keine Wirkung auf Jodwasserstoff ausübt. *Schaer* (16) hat wiederum die Beobachtung gemacht, daß die Oxydase der Phytolacca decandra Guajak sowie Paraphenylendiamin oxydiert, hingegen aber Jodwasserstoff unbeeinflußt läßt. So könnte noch eine Reihe derartiger Beispiele angeführt werden. Aus obigen Reaktionen und Beobachtungen geht hervor, daß wir es bei den Oxydasen des Insulins mit einem Gemenge von verschiedenen Oxydasen oder mit einem Oxydationsferment, das außerordentlich vielseitig ist, zu tun haben. Hierzu möchten wir noch ein illustrierendes Moment anführen. Ein aus Aspergillus niger hergestellter Extrakt, der also nicht alle der oben seitens des Insulins angeführten Reaktionen gab, zeigte z. B. nahezu keine blutzuckerherabsetzende Wirkung, hat also offenbar nicht die den Oxydationsfermenten des Insulins zukommende Konstitution.

Um über die Mengenverhältnisse der im Insulin vorhandenen Oxydationsfermente einen Aufschluß zu erhalten, wurde in der bekannten Weise von folgenden Insulinarten die quantitative Wertbestimmung mit Purpurogallin vorgenommen, und zwar Insulin „Chemosan“, „Phiag“ und Insulin „Lilly“. Es gaben:

Pyrogallussäure g	1 proz. H_2O_2 ccm	Insulin			Purpurogallin		
		Chemosan g	Phiag ccm	Lilly ccm	Chemosan	Phiag	Lilly
1	10	0,01	0,1	0,1	0	0,0045	0
1	10	0,02	0,2	0,2	0	0,0037	0
1	10	0,03	0,3	0,3	0	0,0028	0
1	10	0,04	0,4	0,4	0,007	0,0026	0,0099
1	10	0,05	0,5	0,5	0,0098	0,0031	0,0103
1	10	0,06	0,6	0,6	0,0065	0,0030	0,0072
1	10	0,07	0,7	0,7	0,0059	0,0018	0,0064
1	10	0,08	0,8	0,8	0,0054	0	0,0041
1	10	0,09	0,9	0,9	0,0049	0	0,0040
1	10	0,1	1	1	0,0058	0	0,0028

Dieser mit dem Ausfall der qualitativen Reaktionen nicht ganz übereinstimmende Befund hat uns veranlaßt, anzunehmen, daß noch andere Fermente vorhanden sein müssen, die offenbar unter bestimmten Verhältnissen schädigend auf die Purpurogallinbildung einwirken.

Bei den daraufhin gemachten Versuchen konnte noch Aldehydase nachgewiesen werden. Von dieser ist bekannt, daß sie bisher noch nicht mit Sicherheit in Pflanzen (*Bourquelot*) (17), wohl aber in der Leber, Pankreas und in Muskel von (Säuglingen) Säugetieren, besonders in der ersten in größerer Menge nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde in der Weise vorgenommen, daß einige Tropfen Salicylaldehyd mit ungefähr 2 ccm Wasser durchgeschüttelt werden, bis eine Emulsion entsteht. Auf Zusatz von Insulin und nach kurzem Durchschütteln scheidet sich die Salicylsäure als fester in Wasser unlöslicher Niederschlag ab und wurde mit Eisenchlorid nachgewiesen. Nach dem Ausfall der Reaktion kann auf eine größere Menge derselben im Insulin geschlossen werden.

Die Reaktion auf Uricooxydase mit Harnsäure war negativ.

Es wurde nun noch das Verhalten von gekochtem Insulin in bezug auf den Nachweis von Oxydasen und Aldehydasen geprüft. Alle oben angeführten Reaktionen blieben bei demselben negativ.

Was die Deutung dieser Befunde anlangt, kann natürlich ein abschließendes Urteil nicht abgegeben werden. Es sollen hier nur einige Literaturdaten angeführt werden, welche in dieser Beziehung einen Fingerzeig gestatten. Nach *Neumann-Wender* (19) dienen die Oxydasen nicht nur dazu, die chemische Energie in Freiheit zu setzen, sondern auch die Protoplasmagifte zu zerstören. *Löw, Aso* und *Sowa* (20) behaupten, daß die Oxydasen bei der Zerstörung der Ermüdungsstoffe eine Rolle spielen. *Ewald* (21) meint, daß die Leucocytose, indem sie eine Steigerung der Oxydasenmenge bewirkt, ein Schutzmittel gegen die Toxine bildet. *Spanjer Herford* (22) schrieb den Oxydasen eine bakterizide Wirkung zu. *Woods* (23) glaubt von der guajakbläuenden Oxydase, daß sie eine bedeutende Hemmung der Diastasewirkung auf die Stärke bewirkt. Mit der Steigerung der Oxydasemenge in den Tabakblättern nimmt auch der Stärkegehalt derselben zu. Nach *Spitzer* (24), *Batelli* und *Stern* (25) entfaltet unter den daraufhin untersuchten Geweben des Hundes, des Kaninchens (usw.) die Leber die größte oxydative Wirkung, in zweiter Linie das Pankreas. Nach *Batelli* und *Stern* wird die sogenannte akzessorische Atmung in der Leber ausschließlich von Oxydationsfermenten bestritten. Bezüglich der Aldehydase, von der *Batelli* und *Stern* (25) gezeigt haben, daß sie ein hydrolysierendes Ferment ist, ist es ja bekannt, daß sie für die Zerstörung von sehr giftigen Abbauprodukten, wie der Aldehyde, im Organismus von großer Bedeutung ist. Aus vorstehendem ist zu er-

sehen, daß gerade an den Stellen, wo beim Diabetes Störungen in den Funktionen der Organe angenommen werden, Fermente angreifen oder mithelfen können. Beim Diabetes handelt es sich um eine vermehrte Zuckerproduktion in der Leber, oder um einen gestörten Zuckerverbrauch in den Geweben. Nach obigen Angaben können an beiden Stellen die im Insulin nachgewiesenen Fermente angreifen. Nach verschiedenen Mitteilungen soll das Insulin beim Aufbewahren unter Umständen an Wirksamkeit zunehmen; es ist möglich, daß die Fermente auch in dieser Beziehung eine Rolle spielen. Ob die nachgewiesenen Fermente die Wirkung des Insulins allein ausüben, ob noch andere Fermente oder wirksame Bestandteile vorhanden sind, ob sie und wie sie zweckmäßig durch Mischungen von Fermenten ersetzt werden können, müssen weitere Untersuchungen feststellen.

Zusammenfassung.

Blutzuckerherabsetzende Substanzen lassen sich nach dem Verfahren von *Collip*, sowie nach dem für das Insulin angegebenen Verfahren aus Pilzen (Champignons) und Rüben gewinnen. Die mit Mineralsäuren angesäuerten Alkohol gewonnenen Champignonextrakte wirken nicht blutzuckerherabsetzend.

Da die bei dieser Herstellung angewandten Methoden denen der Darstellung der Fermente ähneln, andererseits es bekannt ist, daß Oxydationsfermente in allen bisher auf blutzuckerherabsetzende Substanzen untersuchten Pflanzen vorkommen, wurden solche Oxydationsfermente nach den dafür bekannten Arbeitsmethoden hergestellt. Mit aus Meerrettich gewonnenen Peroxydasen, aus Champignonpilzen ererzeugten Tyrosinasen, aus Schafleber hergestellten Katalasen konnte eine beträchtliche blutzuckerherabsetzende Wirkung erzielt werden. Diese Fermente wirken im allgemeinen um so stärker, je reiner sie dargestellt wurden. Den vorstehenden Extrakten bzw. Fermenten äquivalente Mengen Eiweiß (Caseosan) Kaninchen injiziert, wirken überhaupt nicht blutzuckerherabsetzend. Ebensolche Mengen Tyrosin Kaninchen parenteral einverleibt, wirken nur wenig blutzuckerherabsetzend, woraus gefolgert werden kann, daß der biologische Fermentfaktor bei der blutzuckerherabsetzenden Wirkung eine bedeutende Rolle spielt.

Mit Rücksicht auf den Umstand, daß die blutzuckerherabsetzenden Substanzen bei den Pflanzenextrakten auf Oxydationsfermente zurückgeführt werden konnten, wurde auch im Insulin auf das Vorhandensein derselben nachgesehen. Es konnten Peroxydasen und Aldehydasen nachgewiesen werden. Mit Rücksicht auf die Vielseitigkeit des Ausfalls der Reaktionen auf Peroxydasen (Orthokresol, Jod, Paraphenylen-

diamin, und Naphthol, Pyrogallussäure, Hydrochinon und Phenolphthalein) wird auf ein Gemenge von verschiedenen Peroxydasen oder eine Oxydase von vielseitigem Können geschlossen.

Aus dem Umstande, daß eine Diskrepanz zwischen dem Grade des Ausfalls der qualitativen Reaktionen und der quantitativen Bestimmung mit Purpurogallin besteht, wird der Schluß gezogen, daß die vorhandenen Fermente sich gegenseitig in ihrer Wirkung beeinflussen können.

Die nachgewiesenen Fermente sind normalerweise in der Leber, im Pankreas und in den Muskeln nachgewiesen worden und entfalten offenbar dort ihre Wirksamkeit. Da bestimmten Oxydasen eine bedeutende Hemmung der Diastasewirkung auf die Stärke nachgesagt wird, so wäre damit ein Anhaltspunkt zu der Auffassung gegeben, daß durch dieselben die Zuckermobilisierung in der Leber gehemmt bzw. der Glykogenaufbau gefördert wird. Andererseits sind dieselben befähigt. durch ihre katalytische Wirksamkeit Energien zur Verwertung in den Geweben frei zu machen, Protoplasmagifte zu zerstören und auf Ermüdungsstoffe und Bakterien zu wirken. Nach diesen Gesichtspunkten würde das Insulin sowohl im Sinne der Zuckerproduktion bzw. des Glykogenaufbaues als auch im Sinne einer besseren und lebhafteren Verbrennung auf der Verbrauchsseite in den peripheren Geweben und in der Muskulatur regulierend wirken.

Ob die oben genannten Fermente das allein wirksame Prinzip im Insulin sind und wie das Insulin eventuell zweckmäßig ersetzt werden könnte, müssen erst weitere Untersuchungen ergeben.

Bemerkt wird, daß die Wirksamkeit obiger Fermente sowie das Insulin durch Kochen, durch Mineralsäuren, sowie durch Trypsinverdauung zerstört werden kann.

Literatur.

1) *Collip*, Journ. of biol. Chem. **57**, 65, 1923. — 2) *C. H. Best* und *A. Scott*, Journ. Metabol. Res. **3**, 177—179. — 3) *Gustav Singer*, Wien. klin. Wochenschr. 1924, S. 155 und 621. — 4) *A. Gottschalk*, zitiert nach *Singer*, ebendaselbst 1924, S. 155. — 5) *Batelli* und *Stern*, Ergebn. d. Physiol. 1912, S. 155. — 6) *Erhard Glaser*, Pharm. Monatsh. 1924, H. 1. — 7) *Lehmann* und *Sano*, Arch. f. Hyg. **67**, 99, 1908. — 8) *Ernest* und *Berger*, Chem. Ber. **40**, 467, 1908. — 9) *Pringsheim*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **62**, 386, 1909. — 10) *J. Grüss*, Wochenschr. f. Brauerei **18**, 310 und 335, 1901; **25**, 1908. — 11) *Brocz*, *Rousseau* und *Gain*, Rev. general de Botan. **21**, 55, 1909. — 12) *Abderhalden*, Biochem. Arbeitsmethoden **3**. — 13) *L. Pollak*, *Löwy* und *Latzel*, zitiert nach *Singer*, Wien. med. Wochenschr. 1924, S. 155 — 14) *Raciborski*, Extr. du Bul. de l'Acad. des Sciences de Cracovie Odoloc 1905. — 15) *Remitzer*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **61**, 352, 1909. — 16) *Schaer*, Festschr. d. Naturforschergesellschaft, Zürich, **2**, 233, 1896. — 17) *M. Bourquelot*, C. r. de la Soc. de Biol. **48**, 315, 1896. — 18) *A. Jaquet*, Arch. f. exper.

Pathol. u. Pharm. **29**, 386—396, 1892. *A. Jaquet, J. E. Abelvus* und *G. Biarnes*, Archiv de phys. norm. et pathologie **25**, 591—595, 1894; **27**, 195—199, 239—244, 1895; **28**, 311—315, 1896; C. r. de la Soc. de Biol. **48**, 94—96, 262—264, 1896; *E. Salkowski*, Virchows Arch. **147**, 1—22, 1897. — 19) *Neumann-Wender*, Chem.-Ztg. **26**, 1217, 1902. — 20) *Löw, Aso* und *Sova*, Chem. Ber. **91**, 254, 1902. — 21) *Ewald*, Pflügers Arch. **116**, 334, 1907. — 22) *Spanjer Herford*, Virchows Arch. **205**, 276, 1911. — 23) *A. T. Woods*, Bot. Gazette 1897. — 24) *Spitzer*, Pflügers Arch. f. Phys. **67**, 615, 1897. — 25) *Batelli* und *Stern*, diese Zeitschr. **18**, 44, 1908. — 26) *Dieselben*, ebendaselbst **29**, 130, 1910.

Untersuchungen über die Salzaufnahme der Pflanzen.

I. Mitteilung:

Die gegenseitige Beeinflussung der Ionen.

Von

H. Lundegårdh und Vl. Morávek[1]).

(Eingegangen am 3. August 1924.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

Die Aufnahme von Salzen in die lebende Pflanzenzelle ist nach zwei Richtungen hin untersucht worden. Die *eine* Richtung beachtet die Permeabilität der Zelle für die verschiedenen Moleküle und Ionen bei *kurzdauernder* Einwirkung der Salze. In dieser Richtung ist viel gearbeitet worden. Es seien hier die Arbeiten von *Rysselberghe, Lundegårdh, Fitting, Tröndle, Kahho* u. a. erwähnt, in denen dargelegt wird, daß viele Salze in kurzen Intervallen mit meßbarer Geschwindigkeit in die Zelle permeieren, während andere sehr langsam eindringen.

Allen diesen Permeabilitätsversuchen ist es gemeinsam, daß sie mit ziemlich konzentrierten Lösungen bei kurzer Beobachtungszeit vorgenommen wurden. Als Material hat man meistens kleinere abgeschnittene oder abgezogene, also stark verwundete Gewebsstücke verwendet (Epidermis, Wurzeln). Die Untersuchungsmethode war entweder die Plasmolysemethode oder die Gewebsspannungsmethode. Man mißt mit diesen Methoden nicht direkt die in die Zelle permeierte Salzmenge, sondern schließt aus dem Zurückgehen der Plasmolyse bzw. der Wiederausdehnung der Zellen, daß der osmotische Überdruck in der Lösung auf Grund von Endosmose vermindert wurde. Während des Versuchs stattfindende etwaige aktive Druckänderungen in der Zelle kommen natürlich hierbei als Fehlerquellen mit in Betracht, meistens dürften sie jedoch keine größere Rolle spielen [vgl. *Lundegårdh* 1911, *Fitting* 1915[2])]. Sogar der häufig, in der letzten Zeit namentlich von

---

[1]) Diese Arbeit wurde ausgeführt während des Aufenthaltes von *H. Lundegårdh* als Gast der naturwissenschaftlichen Fakultät der Masaryk-Universität in Brünn.

[2]) Über bemerkenswerte Fälle von Anatonose in Spaltöffnungszellen siehe *W. S. Iljin* 1924.

Hansteen-Cranner (1922) erhobene Einwand, daß bei der Plasmolyse die Plasmaoberfläche stark verändert wird, und daß man also eigentlich die Durchlässigkeit einer pathologisch veränderten Zelle mißt, wird durch die bemerkenswerte Tatsache geschwächt, daß *Kahho* mittels der Gewebespannungsmethode viele der mittels der Plasmolysemethode von *Fitting* und *Tröndle* gewonnenen Ergebnisse bestätigt fand.

Besonders wichtig ist die Beachtung des Ionenantagonismus: Die Permeabilität ist stark abhängig von der Art der auf das Plasma wirkenden Ionenkombination. Für das Studium der großen Gesetzmäßigkeiten bei der kurzdauernden Salzaufnahme, die in dem allgemeinen kolloidchemischen Zustand des Protoplasmas begründet zu sein scheinen, dürfte die Plasmolysemethode immer noch einen Platz behaupten können. Daß sie dagegen bei der Ermittlung feinerer Unterschiede, die auf dem speziellen Zustand der unversehrten Plasmakolloide beruhen, versagen muß, leuchtet ohne weiteres ein. Als allgemeiner Einwand gegen die gebräuchlichen Permeabilitätsmethoden gilt, daß man die gewonnenen Ergebnisse nur mit großer Vorsicht auf die Verhältnisse in der Natur, wo es sich um unversehrte Pflanzen, lang ausgedehnte Aufnahmeperioden, große Verdünnungen und wechselnde Ionenkombinationen handelt, ausdehnen darf.

Für die Pflanzenökologie kommt deshalb fast ausschließlich die *zweite* Forschungsrichtung in der Lehre von der Salzaufnahme in Betracht, die an die älteren landwirtschaftlichen Arbeiten von *Wolff* u. a. anknüpft. Diese Richtung will die unter natürlichen Bedingungen stattfindende Aufnahme und Abgabe von Molekülen und Ionen verfolgen, was nur vermittels der in längeren Intervallen vorgenommenen chemischen Analyse der Pflanzen oder der Nährlösungen geschehen kann. Für diese natürliche Stoffaufnahme ist nicht nur die primäre Permeabilität der Zellen maßgebend, sondern auch chemische Vorgänge in dem Pflanzenkörper. So werden natürlich diejenigen Stoffe reichlicher aufgenommen, die in dem Inneren der Pflanze gebunden oder weiter verarbeitet werden, auch wenn sie in kurzdauernden Versuchen sich vielleicht als schwer aufnehmbar zeigen. Ferner findet im Leben der Pflanze ein ausgiebiger Austausch von Ionen mit dem Medium statt, der darauf beruht, daß von den Salzen die Kationen und Anionen in verschiedener Menge aufgenommen werden, wobei zur Wiederherstellung des verschobenen elektrischen Gleichgewichts wieder andere Ionen aus der Pflanze ausgeschieden werden. Die in den letzten Jahren ausgeführten Untersuchungen von *Pantanelli*, *Waynick*, *Redfern* und *Hoagland*[1]) haben

[1]) Die Arbeit von *Hoagland* erschien erst, nachdem der experimentelle Teil unserer Untersuchung beendet war.

reichliche Belege auf diese verschiedene Aufnahme des Kations und Anions eines dargebotenen Salzes, sowie auf den Ionenaustausch beigebracht. Die Salzaufnahme dürfte nach diesen Untersuchungen im wesentlichen eine Ionenaufnahme sein.

Die Intensität der Aufnahme einzelner Ionen wechselt nun ziemlich stark in verschiedenen Lebensperioden und bei verschiedenen Pflanzen. In der landwirtschaftlichen Literatur findet man viele Angaben hierüber. Man kann deshalb kaum erwarten, daß die Versuche über Ionenaufnahme in längeren Perioden und mit intakten Pflanzen sehr übereinstimmende Resultate zeitigen werden. Andererseits sei es von großer theoretischer und praktischer Bedeutung, zu erfahren, in welcher Ausstreckung allgemeine Regeln die Stoffaufnahme beherrschen, und inwieweit sie mit kolloidchemischen Erscheinungen identifiziert werden können. Da in der Natur immer mehrere Ionen gleichzeitig zur Wirkung kommen, so ist unter anderem die gegenseitige Beeinflussung derselben bei dem Aufnahmevorgang zu untersuchen, ein Thema, das der eine von uns (*Lundegårdh*) vor Jahren aufgeworfen hat, und das später von *Kahho* wieder bearbeitet wurde. *Lundegårdh* (1911) fand, daß die Salzionen eine spezifisch verschiedene Wirkung auf die Durchtrittsgeschwindigkeit der Wassermoleküle ausübten. Die Resultate waren zwar nicht sehr deutlich, wiesen jedoch darauf hin, daß lyotrope Erscheinungen mitwirken. Viel später nahm *Kahho* mit der *Lundegårdh*schen Gewebespannungsmethode wieder die Frage nach dem Einfluß von Salzionen auf die Aufnahme anderer Ionen auf. Er fand hierbei eine ausgedehnte Beteiligung kolloidchemischer Erscheinungen.

Wir haben nun als unsere Aufgabe gestellt, den gegenseitigen Einfluß der Ionen bei *längerer* Versuchsdauer (meistens 3 × 24 Stunden) an unversehrten Pflanzen und mittels chemischer Methoden zu untersuchen. Beobachtungen über die gegenseitige Beeinflussung der Ionen bei der Aufnahme finden sich auch in der Arbeit von *Pantanelli*. Wir werden unten Gelegenheit finden, unsere Ergebnisse mit denjenigen von *Pantanelli* und von *Hoagland* zu vergleichen.

Material und Methoden.

Das Material war ein böhmischer Weizen. Die Samen wurden zur Vorkeimung in großen zugedeckten Glasschalen bei 24° C gebracht, deren Boden mit feuchtem Filtrierpapier bedeckt war. Nach dem Hervortreten von Wurzeln und Koleoptilen wurden die Keimlinge zu je sieben Stück in sorgfältig gereinigte Kristallisierschalen von 10 bis 12 cm Durchmesser und etwa 6 cm Höhe übertragen. In diese Schalen wurde vorher die Versuchslösung einpipettiert. Dann wurden die Schalen mittels großer Uhrgläser zugedeckt und in den Thermostat bei 24° C

gestellt. Während des Versuchs wuchsen die Keimlinge so weit aus, daß die Wurzeln eine Länge von 5 bis 10 cm hatten.

Zur Messung der Permeabilität wurden drei der wichtigsten Ionen K, NO_3 und PO_4 (bzw. H_2PO_4) gewählt, die sich bequem und sicher durch mikrochemische Methoden nachweisen lassen.

Die Grundlösung bestand aus bzw. n/50 KCl, $NaNO_3$ oder einer neutralen (p_H 7,0) Mischung von Na_3PO_4 und NaH_2PO_4. Da in der letzten Lösung sowohl PO_4 wie H_2PO_4 vorhanden ist, so kann man nicht entscheiden, in welchem Verhältnis diese Ionen aufgenommen werden. Die Analysenergebnisse wurden als PO_4 berechnet, und wir werden im folgenden den kurzen Ausdruck Phosphation benutzen.

Die Kontrollen blieben ohne Zusatz. Außerdem wurden Kontrollen ohne Pflanzen angesetzt, um die eventuell stattfindende Adsorption an den Gefäßwänden zu eliminieren. Zu den übrigen Schalen wurden verschiedene Mengen von denjenigen Salzen hinzugefügt, deren Einfluß auf die Permeabilität zu untersuchen war. Nur diejenigen Ionen, die in der Natur zum Einfluß kommen, wurden geprüft, und zwar in je drei Konzentrationen n/400, n/200, n/100. Jede Versuchsreihe wurde doppelt angesetzt, die in den Tabellen aufgenommenen Werte sind Mittelwerte.

Nach dem Ablauf der Versuchszeit (meistens 3 × 24 Stunden) wurde die Lösung in einen Meßkolben abgegossen und die Schale mit den Keimlingen dreimal gründlich, aber rasch mit destilliertem Wasser abgespült. Dann wurde bis auf die Marke verdünnt. Bei der Phosphatbestimmung wurden 2 ccm, bei der Nitratbestimmung 20 ccm zur Analyse genommen. Für die Kaliumbestimmung wurden 5 ccm von 25 ccm der gesamten Lösung genommen.

Das Kalium wurde durch Titration des Kalium-Kobalti-Hexaminnitrits mit Permanganat bestimmt[1]). Der Niederschlag war bei 500 Touren zentrifugiert, weil er sich in der Lösung, wo auch exosmierte hydrophile Kolloide zugegen waren, langsam absetzte.

Das Phosphat wurde kolorimetrisch nach *R. D. Bell* und *E. A. Doisy*[2]) in der Modifikation von *A. P. Briggs*[3]) bestimmt. Der Farbenvergleich wurde in dem *Dubosq*schen Kolorimeter vorgenommen.

Das Nitrat wurde nach *Weibull*[4]) als Ammoniumpikrat kolorimetrisch bestimmt. Zwischen der Lampe und den Röhren des Kolorimeters war ein blauviolettes Filter eingeschaltet.

---

[1]) *T. F. Tisdal* und *B. Kramer*, Journ. biol. Chem. **48**, 1, 1921.

[2]) *R. D. Bell* und *E. A. Doisy*, ebendaselbst **44**, 55, 1920.

[3]) *A. P. Briggs*, ebendaselbst **53**, 13, 1922.

[4]) Siehe *T. Gaarder* und *O. Hagem*, Meddel. Nr. 4 fra Vestlandet Forstlige Försöksstat. Norge **2**, H. 2, 1921.

Die Analysenfehler bei der Mikrobestimmung des Nitrats und des Phosphats waren nicht größer als ± 5 Proz., beim Kalium ± 2 Proz. Die Versuchsfehler waren, wie Parallelversuche zeigten, aus folgenden Gründen etwas größer (bis ± 10 Proz.):

1. In einigen Schalen (mit Fe, Al) entwickeln sich die Wurzeln langsam und krümmen sich unregelmäßig.

2. Bei gleicher Wurzellänge können die Wurzelhaare sich ungleichmäßig entwickeln (in NH_4).

3. Trotz Sterilisierung der Schalen können in den Kulturen Bakterien auftreten.

Nach der dreitägigen Versuchszeit wurde das p_H der Lösungen bestimmt und überall dasselbe gefunden:

Versuchsnummer	Lösung	p_H
100—101	4 ccm 0,02 n $NaNO_3$ + 0,2 ccm 0,1 n NaCl	6,8
102—103	4 „ 0,02 n $NaNO_3$ + 0,2 „ 0,1 n Na_2SO_4	6,8
104—105	4 „ 0,02 n $NaNO_3$ + 0,2 „ 0,1 n Na_2CO_3	6,8
106—107	4 „ 0,02 n $NaNO_3$ + 0,2 „ 0,1 n NaH_2PO_4	6,8
108—109	4 „ 0,02 n $NaNO_3$ + 0,2 „ 0,1 n Na_3PO_4	6,8
110—111	4 „ 0,02 n $NaNO_3$ + 0,2 „ H_2O	6,8

Die Lösung, welche NaH_2PO_4 enthielt, reagierte anfangs sauer, die mit Na_3PO_4 alkalisch. Die Keimlinge regulieren aber das p_H in angegebener Richtung.

Ergebnisse.

Diese sind in den Tabellen II bis IV sowie in den Abbildungen 1 bis 3 zusammengestellt. Der Übersichtlichkeit halber sind die Werte immer umgerechnet in Prozent, wobei die in den Kontrollen *mit* Pflanzen aufgenommene Quantität gleich 100 gesetzt wurde. Während des Versuchs ändert sich natürlich die Konzentration der Lösung, und zwar sinkt sie bei KCl und $NaNO_3$ auf etwa die Hälfte der betreffenden Ionen, während in der Phosphatlösung nur eine Konzentrationssenkung auf etwa $^{84}/_{100}$ stattfindet. Folgender Versuch zeigt den Einfluß der Verdünnung auf die Aufnahmegeschwindigkeit.

Tabelle I.

Konzentration	n/50 KCl	n/75 KCl	n/100 KCl	n/150 KCl
Aufgenommene Kaliummenge (relativ)	100	98	91,7	73,2

Eine Verdünnung von n/50 auf n/100 setzt also die Salzaufnahme nur um 8,3 Proz. herab. Es schien mir deshalb nicht notwendig, eine Korrektion für die während des Versuchs stattfindende Verdünnung der Lösung anzubringen.

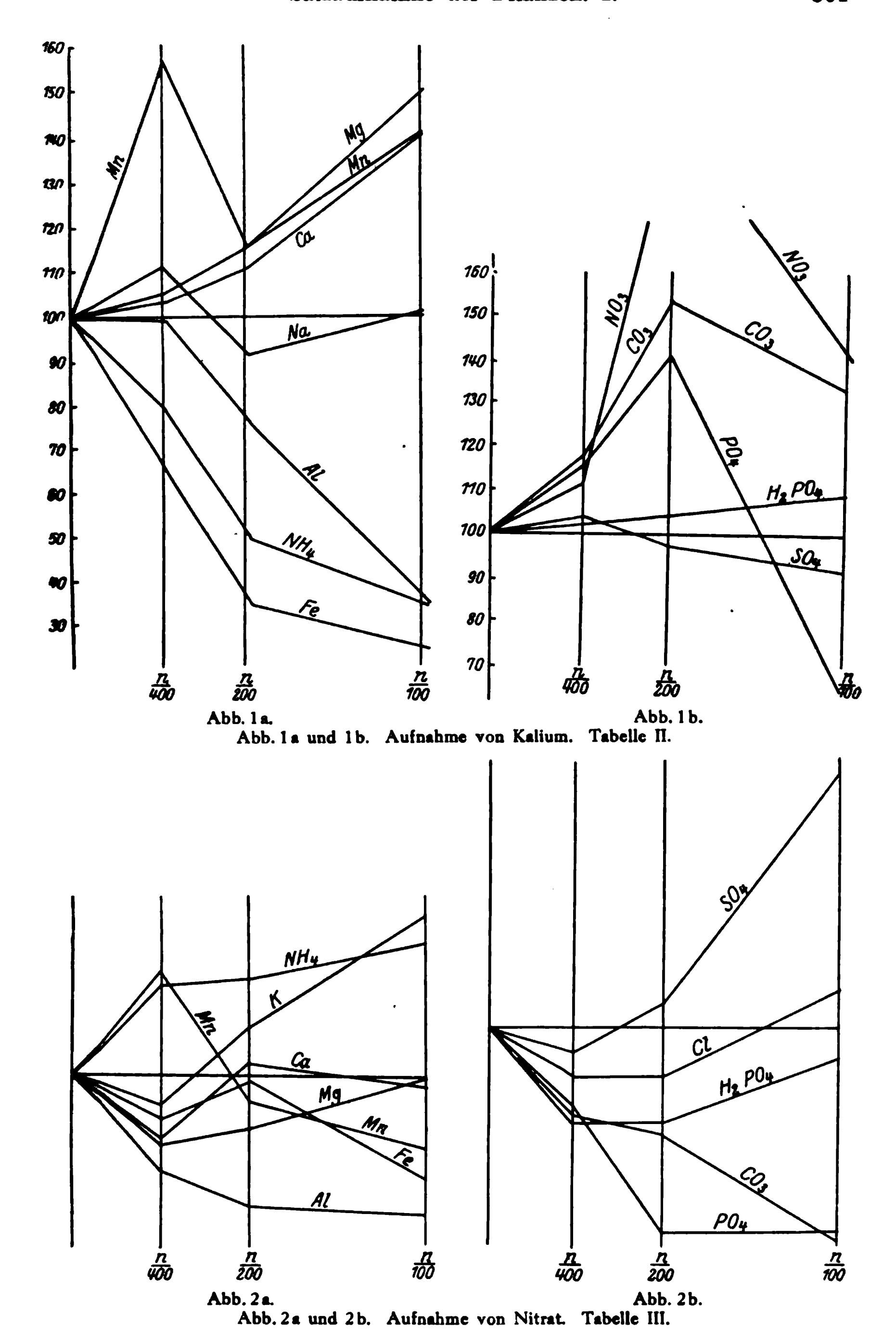


Abb. 1a. Abb. 1b.
Abb. 1a und 1b. Aufnahme von Kalium. Tabelle II.

Abb. 2a. Abb. 2b.
Abb. 2a und 2b. Aufnahme von Nitrat. Tabelle III.

Tabelle II.

Aufnahme von Kaliumion.

Grundlösung 4 ccm n/50 KCl, enthaltend 2,86 mg K, bestimmt aus den Kontrollen ohne Pflanzen.

Kationenreihe.

Konzentration	Ion[1])	Kein	NH_4	Na	Ca	Mg	Mn	Al	Fe
	n/400	100	77,2	110,8	103,6	104,8	157,6	98,8	63,4
	n/200	100	42,8	92,4	115,1	113,2	115,0	74,8	33,3
	n/100	100	32,9	101,3	139,7	151,0	142,7	32,7	21,7

Anionenreihe.

Konzentration	Ion	Kein	NO_3	SO_4	CO_3	H_2PO_4	PO_4
	n/400	100	131,5	104,6	118,2	102,9	116,9
	n/200	100	176,0	97,9	152,4	105,6	144,8
	n/100	100	149,3	98,9	141,6	117,0	63,8

Tabelle III.

Aufnahme von Nitration.

Grundlösung 4 ccm n/50 $NaNO_3$, enthaltend 4,96 mg NO_3, bestimmt aus den Kontrollen ohne Pflanzen.

Kationenreihe.

Konzentration	Ion	Kein	NH_4	K	Ca	Mg	Mn	Al	Fe
	n/400	100	120,8	93,1	85,7	85,0	122,0	78,2	90,6
	n/200	100	121,3	111,6	102,0	88,8	93,3	70,9	98,0
	n/100	100	130,7	136,8	97,0	98,7	83,1	69,7	76,0

Anionenreihe.

Konzentration	Ion	Kein	Cl	SO_4	CO_3	H_2PO_4	PO_4
	n/400	100	89,4	94,4	80,1	79,3	81,2
	n/200	100	89,4	105,5	75,4	78,0	53,5
	n/100	100	108,6	158,0	53,1	93,2	53,5

Tabelle IV.

Aufnahme von Phosphationen.

Grundlösung 4 ccm n/50 Na_3PO_4 + NaH_2PO_4 (p_H 7,0), enthaltend 2,452 mg Phosphat, bestimmt aus den Kontrollen ohne Pflanzen.

Kationenreihe.

Konzentration	Ion	Kein	NH_4	K	Ca	Mg	Mn	Al	Fe
	n/400	100	151,9	119,7	73,3	166,1	136,8	122,0	83,0
	n/200	100	150,6	127,0	161,0	122,0	151,2	73,3	124,5
	n/100	100	148,9	134,2	168,4	105,0	195,3	66,0	137,8

[1]) Kationen überall als Chloride, Anionen als Natriumsalze.

Anionenreihe.

Ion		Kein	Cl	NO_3	SO_4	CO_3
Konzentration	n/400	100	105,0	75,8	122,3	117,3
	n/200	100	78,3	97,6	117,3	114,6
	n/100	100	83,0	100,0	68,3	85,6

Die Kationen- und Anionenreihe in jeder Serie wurden parallel ausgeführt, die Werte sind also unmittelbar vergleichbar.

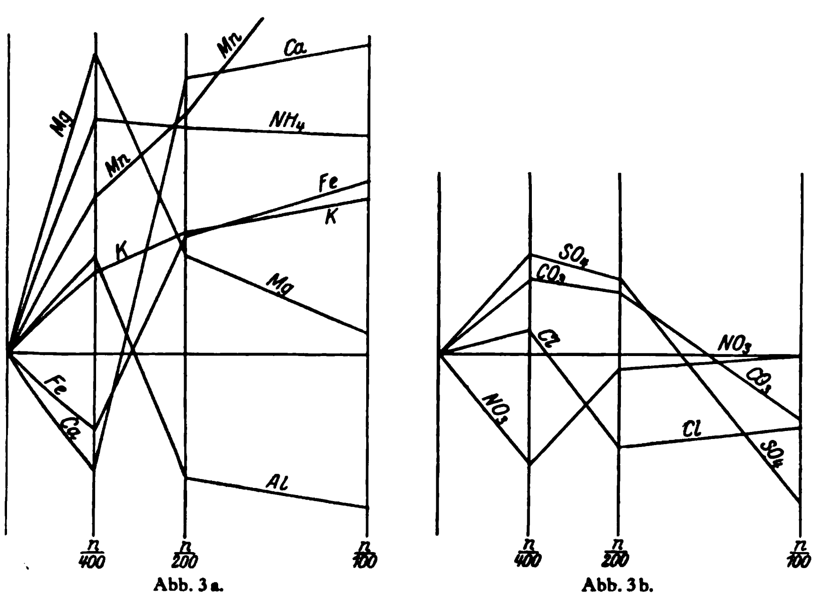


Abb. 3a. Abb. 3b.

Abb. 3a und 3b. Aufnahme von Phosphat. Tabelle IV.

Diskussion.

Die Versuche zeigen, daß die Ionen, auch bei großer Verdünnung, die Aufnahmegeschwindigkeit von K, NO_3 und Phosphat stark beeinflussen. Die Wirkung ist aber nicht überall gleich. Auch wird die Wirkung meistens sehr durch die Konzentration verändert. Bei dem näheren Vergleich ist im Auge zu behalten, daß die Versuchsfehler etwa $\pm$ 10 Proz. betragen (vgl. oben).

Die Kationen Kalium, Calcium und Aluminium und die Anionen Nitrat und Phosphat verhalten sich am konstantesten.

Das Kalium begünstigt die Aufnahme von Nitrat und Phosphat, und die Wirkung steigt mit der Konzentration.

Das Calcium verhält sich bei der Nitrataufnahme fast neutral, begünstigt aber in Konzentrationen n/200 bis n/100 die Kalium- und Phosphataufnahme.

Das Aluminium hat überall eine hemmende Wirkung, außer in n/400 auf die Phosphataufnahme, und die Hemmung wächst rasch mit der Konzentration.

Das Nitrat wirkt stark begünstigend auf die Kaliumaufnahme, mit einem Maximum bei n/200, auf die Phosphataufnahme hat es keine deutliche Wirkung.

Das Phosphation (PO_4)[1]) hemmt in n/100 Lösung die Aufnahme sowohl von Kalium wie Nitrat, während sich H_2PO_4 ziemlich neutral verhält.

Diese sechs Ionen lassen sich also mit ziemlicher Sicherheit in folgende Reihe einordnen:

Begünstigend	Neutral	Hemmend
K	Ca	Al
NO_3	H_2PO_4	PO_4

die mit den kolloidchemischen Erfahrungen übereinstimmt. Die schnelle Aufnahme des Nitrats in die Zelle wurde von *Lundegårdh, Fitting, Tröndle, Kahho* u. a. bei kurzer Einwirkung erwiesen, bei längerer Einwirkung fand *Pantanelli* eine schnelle Absorption des Nitrations, das meistens leichter als das zugehörige Kation eindrang. Die günstige Wirkung des Nitrations auf die Permeabilität anderer Ionen wurde von *Pantanelli* und *Hoagland* beobachtet. Die Reihenfolge $NO_3 > H_2PO_4$ kehrt auch bei dem letzteren Forscher für die Aufnahme von K und Ca wieder.

Die absorptionsbegünstigende Wirkung von Kalium im Vergleich zu Calcium wurde ebenfalls von *Hoagland* beobachtet (Anion Cl und NO_3).

Die hemmende Wirkung von Al bringt in Erinnerung ähnliche Beobachtungen von *Lundegårdh* (1911) betreffs der Wasseraufnahme, von *Scücz* (1913) betreffs der Aufnahme von Ca, und von *Stoklasa* betreffs K und Fe.

Gehen wir zu den kolloidchemischen Erfahrungen, so ist bekannt, daß K und NO_3 die Quellung begünstigen [*Hofmeister* (1891), *Walter* (1923), *Dokan* (1924)], ferner wirken diese Ionen dispersitätserhöhend auf die Bodenkolloide [*Wiegner* (1918)]. Calcium und Aluminium verdichten dagegen die Gelstruktur, wie u. a. aus den Beobachtungen *Hansteen-Cranners* und *Scücz* hervorgeht, und Ca flockt bekanntlich die Bodenkolloide stark aus. Ob es sich hier um eine „Ausfällung“ oder um eine „Entquellung“ handelt, läßt sich schwer entscheiden.

---

[1]) In stärkerer Konzentration erhöht die PO_4-Lösung die OH-Konzentration. Da aber nach *Dokan* (1924) die Wertigkeitswirkung von OH sehr schwach ist, so dürfte die Störung nicht erheblich sein.

Überhaupt läßt uns die Kolloidchemie bei dieser Frage ziemlich im Stich, neuere Untersuchungen [siehe *Höber* (1923), *Dokan* (1924)] deuten darauf hin, daß die Ionen teils durch ihre elektrische Ladung (Wertigkeit), teils durch lyotrope (wasseranziehende) Eigenschaften wirken. Die *Hofmeister*sche Reihe geht aus den Resultanten beider Wirkungen hervor.

Die neueren Untersuchungen von *Walter* und *Dokan* über die Quellung von Agar werfen übrigens auch ein Licht auf die Bedeutung der Konzentration der Ionen. Es hat sich gezeigt, daß schwache und starke Konzentrationen in verschiedener Richtung wirken, indem bei Konzentration $< n/10$ die Wertigkeit, bei Konzentration $> n/10$ die lyotrope Wirkung der Ionen in den Vordergrund tritt [*Dokan* (1924)]. So ruft z. B. NO_3 in schwacher Konzentration eine starke Herabsetzung der Quellung hervor [*Walter* (1923)], während dieses Ion in höherer Konzentration quellungsfördernd wirkt.

Die *Hofmeister*schen Reihen sind also von der Konzentration abhängig und gelten im allgemeinen nur für hohe Ionenkonzentrationen, die aber im Leben der Pflanze seltener vorkommen. Diese lyotropen Ionenreihen sind also kein unbedingtes Kriterium, daß rein kolloidchemische Erscheinungen mit im Spiel sind. In den Versuchen *Kahhos* traten die Reihen deutlich hervor, in den Versuchen *Lundegårdhs*, *Tröndles* und *Pantanellis* schon weniger deutlich. Übrigens ist die Wirkung schwacher Ionenkonzentrationen stark von der Ladung des Kolloids abhängig, und da diese beim Plasma sicher verschieden sein kann (das native Eiweiß ist ja amphoter), so muß man sehr wechselnde Wirkungen der Ionen voraussehen (vgl. hierzu auch die Ausführungen bei *Lundegårdh* 1911, S. 89ff.).

NH_4, $Mn^{\cdot\cdot}$, $Fe^{\cdot\cdot\cdot}$ und Cl, SO_4 verhalten sich in unseren Versuchen bei der Aufnahme von K, NO_3 und Phosphat wechselnd. NH_4 steht in der lyotropen Reihe links von Kalium, soll also eine stark begünstigende Wirkung haben. Dies war in der Tat der Fall bei der Aufnahme von den Anionen NO_3 und Phosphat, während die Kaliumaufnahme stark gehemmt wurde. Das dreiwertige Ferri-Ion hemmt nach Erwarten die Aufnahme von Kalium und Nitrat, begünstigt dagegen in höherer Konzentration die Phosphataufnahme.

Das zweiwertige Mn verhält sich dem zweiwertigen Mg ähnlich. Beide begünstigen die Aufnahme von Kalium und Phosphat, verhalten sich dagegen bei der Nitrataufnahme neutral oder hemmen schwach. Die zweiwertigen Ca, Mg und Mn bilden überhaupt eine Gruppe mit im großen und ganzen ähnlicher, und zwar begünstigender Wirkung, während die dreiwertigen Al und Fe vorwiegend hemmen. Mit diesem Befund in Widerspruch stehen die Beobachtungen von *Hansteen-Cranner* und *Kahho*, nach denen Calcium ausfällend und permeabilitäts-

hemmend wirken sollte. Auch *Fitting* (1915, S. 50) fand in plasmolytischer Lösung bei *Rhoea discolor* keine Permeabilität für $CaCl_2$ und $Ca(NO_3)_2$. *Lundegårdh* (1911, S. 128 f.) fand, daß aus n/5 Lösungen $Ca(NO_3)_2$ in die Wurzeln von *Vicia faba* langsam eintritt. Auch bei *Atriplex latifolium* wurde in grenzplasmolytischen Lösungen eine sehr langsame Absorption von $CaCl_2$ und $Ca(NO_3)_2$ beobachtet, während bei *Aster tripolium* und *Spergularia salina* das letztere Salz nicht eintrat (*Lundegårdh* 1919, S. 22). Zu nennen sei ferner die Beobachtung von *Eisler* und *Portheim* (1909), daß Ca-, Mn- oder Al-Salze die Aufnahme von Chinin bei *Elodea* stark hemmen. Alle diese hier zitierten Beobachtungen wurden jedoch bei sehr starken Lösungen gemacht, die in der Natur wohl äußerst selten einwirken, ferner in Einsalzlösungen, während in unseren Versuchen sehr schwache Konzentrationen zur Einwirkung kamen und außerdem das in der Lösung immer vorhandene K- oder Na-Ion die Ca- und Mg-Wirkung abbalanzieren dürfte[1]).

Daß Ca und Mg in schwächeren Lösungen und bei langer Einwirkung (3 Tage bis 6 Wochen) in großen Mengen aufgenommen werden können, geht aus den Versuchen von *Pantanelli* (1915), *Waynick* (1918), *Redfern* (1922) und *Hoagland* (1924) hervor. Übrigens ist es ja eine allgemein bekannte Tatsache, daß Salze, die bei Plasmolyseversuchen sehr schwer oder überhaupt nicht eindringen, doch von der Pflanze im Leben aufgenommen werden, ein Hinweis darauf, wie wertlos meistens Permeabilitätsversuche in ökologischer Hinsicht sind.

In Übereinstimmung mit unseren Befunden haben die zuletzt erwähnten Forscher auch gefunden, daß Ca und Mg vielfach fördernd auf die Aufnahme anderer Ionen wirken können. So sagt *Pantanelli* (1915, S. 711), daß NO_3 in Gegenwart von K, Ca und Mg schneller als in Begleitung von (unter anderen) Mn, Al und oft auch NH_4 einwandert. *Waynick* (1918) fand bei Zusatz von $CaCl_2$ in den Konzentrationen 0,12 bis 0,24 n zu der Dreisalzlösung von *Shive* (KH_2PO_4, $Ca(NO_3)_2$, $MgSO_4$) eine stark erhöhte Mg-Aufnahme. Wenn 0,18 n KCl mit steigender Menge $MgSO_4$ kombiniert wurde, so trat bald eine starke Erhöhung der Kaliumabsorption auf[2]). Bei KCl war die Absorption von Ca und Mg verhältnismäßig kleiner als bei Erhöhung der Ca- und Mg-Konzentration.

Auch *Hoaglands* (1924) Versuche zeigen keine besondere Hemmung der Ionenaufnahme bei Anwesenheit von Ca und Mg im Vergleich zu K und Na. In seiner Tabelle IV (S. 231) wird bei KNO_3 2,58 Milliäquivalent NO_3, bei $Mg(NO_3)_2$ 2,33 absorbiert. Aus den Phosphaten

---

[1]) Vgl. *Osterhout* (1908), *Hansteen-Cranner* (1910).

[2]) In diesem Falle dürfte auch das SO_4-Ion tätig sein (vgl. unten).

von K, Na, Ca und Mg wird etwa gleich viel PO_4 aufgenommen (a. a. O., Tabelle VIII).

Auch betreffs der Anionen SO_4 und CO_3 weichen unsere Ergebnisse von den Befunden bei kurzer Einwirkung mit starken Konzentrationen ab. Namentlich SO_4, das als ein stark lyotrop wirksames Ion bekannt ist, hemmt bei Plasmolyseversuchen stark die Aufnahme anderer Ionen (*Fitting* 1915, *Kahho* 1921, *Collander* 1922). Auch bei längerer Einwirkung stärkerer Konzentrationen von $MgSO_4$ oder $CaSO_4$ fanden *Waynick* (1918) und *Hoagland* (1924) eine geringere Salzabsorption als wenn die entsprechenden Chloride oder Nitrate zugesetzt wurden. Dagegen berichtet *Pantanelli* (1915), daß K von Erdpflanzen mehr aus Nitrat, Sulfat und Phosphat als aus z. B. Chlorid aufgenommen wurde.

In unseren Versuchen verhielt sich das SO_4-Ion sehr wechselnd. Bei Aufnahme von Kalium (aus Chlorid) ganz neutral, was auf Antagonismus $SO_4 \longleftrightarrow Cl$ beruhen könnte (auch *Hoagland* fand in einem Versuch, daß eine Mischung von NaCl und Na_2SO_4 in bezug auf die Na-Absorption ähnlich wie NaCl allein wirkte, während Na_2SO_4 allein deprimierte). Bei der NO_3-Aufnahme begünstigte SO_4 in n/100, sonst nicht. Bei der Phosphataufnahme wiederum Hemmung in n/100, sonst Begünstigung.

Sehr wechselnd verhielt sich die Wirkung von CO_3, das die Nitrataufnahme deutlich hemmt, dagegen die Kaliumaufnahme stark begünstigt. Es ähnelt in dieser Beziehung den Phosphationen, denen es in bezug auf lyotrope Wirkung nahe steht.

Das Chlorion endlich hat keine sehr ausgesprochene Wirkung auf die Nitrat- und Phosphataufnahme.

Betrachten wir nun zum Schluß die Wirkung der Konzentration.

Eine mit steigender Konzentration stetig fördernde Wirkung zeigen Ca und Mg in der Kaliumserie, K und SO_4 in der Nitratserie, K, Ca, Mg, $Mn^{\cdot\cdot}$ und NO_3 in der Phosphatserie.

Eine mit steigender Konzentration stetig mehr hemmende Wirkung zeigen NH_4, Al, $Fe^{\cdot\cdot\cdot}$ in der Kaliumserie, $Mn^{\cdot\cdot}$, Al, $Fe^{\cdot\cdot\cdot}$ und CO_3, PO_4 in der Nitratserie, Mg, Al und SO_4, CO_3 in der Phosphatserie.

Mehr unregelmäßig verlaufen die Kurven bei fast allen Anionen sowie Na und $Mn^{\cdot\cdot}$ in der Kaliumserie. Es ist möglich und sogar wahrscheinlich, daß die Ionenwirkung mit der Konzentration sich periodisch ändert. Deutliche Perioden sind in den meisten Kurven *Waynicks* (1918) zu sehen. Zu erwähnen ist hier auch der Umstand, daß es mehrere Kombinationen Ca/Mg gibt, die ganz dasselbe Ergebnis bezüglich Wachstum und Stoffaufnahme hervorrufen (*Waynick*, *Hansteen-Cranner* 1908). Die Auffassung der meisten Forscher, die sich mit Wasserkulturen befaßt haben, geht auch dahin, daß es *mehrere* Nährsalzkombinationen gibt, die optimales Wachstum hervorrufen. Einen

gewissen periodischen Verlauf findet man auch in den Kurven von *Scücz* und *Stoklasa* über antagonistische Ionenwirkungen. Diese Tatsache des periodischen Wechsels der Wirkung bei stetig sich änderndem Konzentrationsverhältnis von gleichzeitig wirkenden Ionen kann nicht überraschen, da, wie oben erwähnt, die kolloidchemische Wirkung sich aus wenigstens zwei Elementarvorgängen zusammensetzt.

Auch die Zeitkurve der Stoffabsorption scheint vielfach einen periodischen Verlauf zu haben. Angaben hierüber findet man bei *Pantanelli* (1915). Es ist ja übrigens aus der landwirtschaftlichen Literatur bekannt, daß die Aufnahme der einzelnen Nährstoffe in verschiedenen Entwicklungsstadien der Pflanze sehr verschieden ist. In gewissen Perioden schlägt die Aufnahme sogar in Ausscheidung über. Überhaupt erscheint im Lichte neuerer Errungenschaften der Lehre vom Ionenaustausch das ganze Problem der Nährstoffbilanz so verwickelt, daß allgemeine Gesetzmäßigkeiten erst aus einem viel ausgedehnteren Tatsachenmaterial als dem, über das wir zurzeit verfügen, mit größerer Sicherheit ermittelt werden könnten.

Zusammenfassung.

1. Kationen und Anionen einer Reihe von Neutralsalzen, die für die Ernährung der Pflanzen maßgebend sind, beeinflussen in Konzentrationen von n/400 bis n/100 stark die Aufnahme von Kalium, Nitrat und Phosphat aus n/50 Lösungen.

2. Einige Ionen, namentlich K, Ca, Mn$^{\cdot\cdot}$, Al und NO_3, H_2PO_4, PO_4 wirkten wahrscheinlich rein kolloidchemisch, d. h. auf Grund ihrer Wertigkeit und ihrer lyotropen Eigenschaften. Die anderen Ionen verhielten sich mehr wechselnd, und es muß die Frage offen gelassen werden, in welcher Weise sie das Protoplasma beeinflussen. Es wurde jedoch hervorgehoben, daß die rein kolloidchemischen Grundlagen in betreff der Ionenwirkung noch ungenügend sind, um darauf nähere Schlüsse auf die Kolloidchemie des Protoplasmas zu bauen.

3. Die Wirkung der Ionen ist meistens sehr stark von der Konzentration abhängig. Die Ergebnisse der kurzdauernden, mit hohen Konzentrationen vorgenommenen Permeabilitätsversuche können meistens nicht auf die ökologischen Fragestellungen übertragen werden.

Literatur.

R. Collander, Jahrb. f. wiss. Bot. **60**, 354, 1921. — *Sh. Dokan*, Kolloidzeitschr. **34**, 155, 1924. — *Eisler* und *Portheim*, diese Zeitschr. **21**, 59, 1909. — *H. Fitting*, Jahrb. f. wiss. Bot. **56**, 1, 1915. — *Hansteen-Cranner, B.*, ebendaselbst **47**, 259, 1910. — *Dieselben*, Meld. fra Norges Landbrukshöjskole **2**, 1922. — *D. R. Hoagland*, Soil Science **16**, 225, 1923. — *R. Höber*, Physikal. Chem. d. Zelle und Gewebe 1923. — *F. Hofmeister*, Arch. f. exper. Pathol.

u. Pharm. **28**, 210, 1891. — *W. S. Iljin*, Arbeiten aus dem pflanzenphysiol. Institut in Prag 1924, S. 1. — *Kahho*, diese Zeitschr. **123**, 284, 1921. — *H. Lundegårdh*, Kungl. Sv. Vet. Akad. Handlingar **47**, Nr. 3, 1911. — *Derselbe*, Botaniska Notiser, S. 1. Lund 1919. — *E. Pantanelli*, Jahrb. f. wiss. Bot. **56**, 689, 1915. — *Gl. M. Redfern*, Ann. of Bot. **36**, 511, 1922. — *Fr. Rysselberghe*, Recueil de l'Inst. bot. Bruxelles **5**, 1902. — *J. Scücz*, Jahrb. f. wiss. Bot. **52**, 85, 1913. — *J. Stoklasa*, Über die Verbreitung des Aluminiums in der Natur, Jena 1922. — *A. Tröndle*, Arch. d. science phys. et nat. Genève, 4: me pér. **45**, 38, 117, 1918. — *H. Walter*, Jahrb. f. wiss. Bot. **62**, 145, 1923. — *D. D. Waynick*, University of California publ. Agric. science **3**, No. 8, S. 135, 1918. — *H. Wiegner*, Boden und Bodenbildung, Zürich 1918.

Über chinin- und atoxylfeste Lipasen in der Thyreoidea.

Von

Ernst Herzfeld und Werner Engel.

(Aus der III. medizinischen Klinik der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 3. August 1924.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Durch die Untersuchungen von *Rona* und seinen Schülern ist gezeigt worden, daß in einzelnen Organen des Körpers Lipasen enthalten sind, die sich gegen verschiedene Gifte resistent erweisen. Bisher sind vorzugsweise die Lipasen aus Leber und Pankreas, Nieren und Lunge untersucht und auf ihre Resistenz gegen Chinin und Atoxyl geprüft worden. Da von verschiedenen Autoren auf das Vorkommen blutfremder Lipasen im Blutserum hingewiesen ist, die bei Erkrankungen bestimmter Organe, z. B. Leber und Pankreas, auftreten, lag es nahe, die Lipasen weiterer Körperorgane auf ihre Giftfestigkeit hin zu prüfen. Wir haben daher in der Absicht, die Lipasen der innersekretorischen Drüsen zu untersuchen, zunächst mit Schilddrüsen Versuche angestellt.

Als Arbeitsmethode diente das stalagmometrische Verfahren von *Rona* und *Michaelis*. Gemessen wurde die durch die Lipasewirkung veränderte Oberflächenspannung einer Tributyrinlösung, die sich durch Änderung der mittels eines Stalagmometers erhaltenen Tropfenzahl kundgibt. Zu 1 ccm des zu untersuchenden Organextraktes wurden 3 ccm einer Pufferlösung (bestehend aus 1 Teil primärem m/3 Natriumphosphat und 14 Teilen sekundärem m/3 Natriumphosphat) zugesetzt. Dazu kam in einem Versuch 1 ccm einer 0,2proz. Chininlösung, in einem zweiten Versuch 1 ccm einer 0,2proz. Atoxyllösung und in einem giftfreien Kontrollversuch 1 ccm Aqua dest. Nach 30 Minuten wurden jedem Gemisch 50 ccm einer gesättigten Tributyrinlösung (4 Tropfen Tributyrin auf 100 ccm Aqua dest., nach mehrstündigem Schütteln filtriert) hinzugefügt. Die Tropfenzahl eines jeden Gemisches wurde zuerst nach Ablauf von 3 Minuten und weiterhin in gleichmäßigen Zeitabständen bestimmt.

Um die Organlipasen zu erhalten, wurden die Schilddrüsen auf folgende Weise zu Extrakten verarbeitet. Frische Schilddrüsen wurden von dem anhaftenden Fett und Bindegewebe befreit und danach in fließendem Wasser ausgewaschen. Die so gereinigten Organe wurden

in einer Fleischmühle zu Brei gemahlen. Der erhaltene Brei wurde mit einer Menge physiologischer Kochsalzlösung versetzt, die dem ursprünglichen Gewicht der Organe gleichkam, d. h. z. B. dem Brei aus 50 g Organen wurden 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt. Der so verdünnte Brei wurde eine Stunde lang geschüttelt, dann wurde die Masse durch achtfachen Mull filtriert und ausgepreßt. Auf diese Weise erhält man aus 50 g Organen etwa 60 ccm Extrakt.

Diese Extrakte wurden zum Teil unter einer Toluolschicht, zum Teil unter Zusatz von 2proz. Chloroform aufbewahrt. Es zeigte sich später, daß die Extrakte unter Toluol zum Teil erheblich weniger haltbar waren als die mit Chloroformzusatz. Wir konnten uns durch Kontrollversuche davon überzeugen, daß die zugesetzten Konservierungsmittel die Lipasen nicht schädigten.

Im folgenden geben wir aus unseren Versuchen eine Anzahl von Beispielen wieder. Sämtliche Versuche anzugeben, erscheint uns überflüssig, da sie im allgemeinen die gleichen Resultate ergaben.

Tabelle I. Versuch mit Rinderschilddrüsenextrakt unter Toluol. Tributyrin 162 Tropfen. Aqua dest. 142 Tropfen.

Minuten	Chininversuch	Atoxylversuch	Giftfreier Versuch	Extraktfreier Versuch
3	161	161	161	158
10	159	156	158	157
20	154	155	155	157
30	154	154	154	158
40	150	154	151	157
50	148	152	150	—
60	147	152	148	—
70	145	149	147	—

Aus vorstehender Tabelle ist zu ersehen, daß die Lipasen der Rinderschilddrüse weder durch Chinin noch durch Atoxylzusatz gehemmt werden. In allen drei Versuchen ist nach 70 Minuten die Tropfenzahl des Wassers nahezu erreicht. In dem extraktfreien Versuch, der nur Pufferlösung, Aqua dest. und Tributyrinlösung enthielt, blieb die Oberflächenspannung unverändert.

Tabelle II. Versuch mit Hammelschilddrüsenextrakt unter Toluol. Tributyrin 158 Tropfen. Aqua dest. 124 Tropfen.

Minuten	Chininversuch	Atoxylversuch	Giftfreier Versuch
(0)	—	—	(151)
3	133	135	130
20	127	128	128
40	125	127	125
60	124	126	124
80	122	125	122

Tabelle III.

Versuch mit Hammelschilddrüsenextrakt mit Chloroformzusatz. Tributyrin 174 Tropfen. Aqua dest. 122 Tropfen.

Minuten	Chininversuch	Atoxylversuch	Giftfreier Versuch
0	162	166	153
3	152	161	142
20	129	136	134
40	127	128	123
60	127	127	124

Aus Tabelle II und III ergibt sich, daß auch die Lipasen der Hammelschilddrüsen sowohl gegen die Chinin- als auch gegen die Atoxyllösung unempfindlich sind. Wie die nach 3 Minuten festgestellten Tropfenzahlen zeigen, wirkt die Hammelschilddrüsenlipase erheblich rascher als die Rinderschilddrüsenlipase. Durch eine sofort nach Zusatz der Tributyrinlösung in einem Versuch vorgenommene Stichprobe [s. Tabelle II (0) und III (0)] ließ sich beweisen, daß bereits innerhalb der ersten 3 Minuten eine starke Einwirkung des Fermentes stattgefunden hatte.

Um dem möglichen Einwand zu begegnen, daß die angewandte Chinin- bzw. Atoxylkonzentration zu gering sei, um die Wirkung hervorzubringen, wurden in Parallelversuchen starke und schwache Konzentrationen nebeneinander angewandt; neben den ursprünglichen 0,2proz. Lösungen wurde Chinin in fünffacher (1proz.), Atoxyl in zehnfacher Konzentration (2proz.) verwendet.

Die Ergebnisse sind in Abb. 1 und 2 dargestellt.

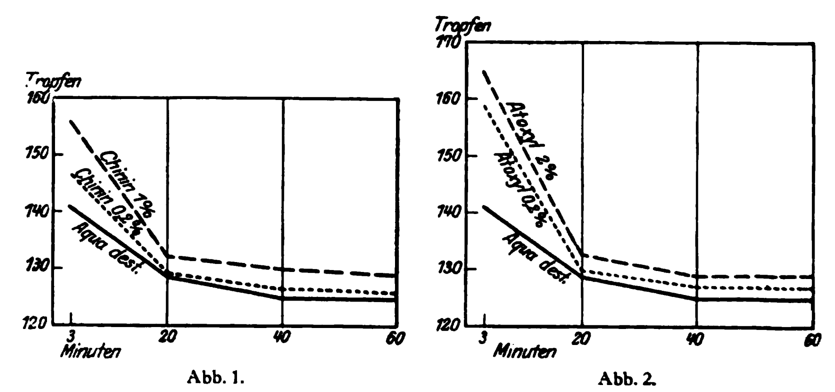


Abb. 1. Abb. 2.

Abb. 1 und 2. Versuch mit Hammelschilddrüsenextrakt unter Chloroformzusatz mit Giften verschiedener Konzentration. Tributyrin 181 Tr.; Aqua dest. 126 Tr.

Aus Abb. 1 und 2 ist zu ersehen, daß die stärkeren Giftkonzentrationen die Abnahme der Tropfenzahl im Anfang zwar etwas

verlangsamen, aber daß diese Differenz sich im weiteren Verlauf der Versuche nahezu ausgleicht. Hieraus geht hervor, daß die Wirkung der Lipase auch durch stärkere Giftlösungen nicht aufgehoben wird.

Zusammenfassung.

1. In den Schilddrüsen von Hammeln und Rindern finden sich chinin- und atoxylfeste Lipasen.

2. Die Lipasen aus Hammelschilddrüsen zeigen eine raschere fermentative Wirkung als die aus Rinderschilddrüsen.

3. Selbst durch eine Erhöhung der Giftkonzentration auf das Fünf- bzw. Zehnfache läßt sich eine Aufhebung der Lipasewirkung bei der Schilddrüse nicht erzielen.

Über die Einwirkung der Sonnenbestrahlung auf das Komplement.

Von

Martin Jacoby und Margarete Jacoby.

(Aus dem Institut für Hochgebirgsphysiologie und Tuberkuloseforschung in Davos.)

(Eingegangen am 4. August 1924.)

Das Komplement des Blutserums gilt als eine besonders labile Substanz, die beim Erwärmen auf mäßige Temperaturen schnell inaktiv wird und auch schon bei Zimmertemperatur in wenigen Stunden ihre Wirksamkeit einbüßt. Vor längerer Zeit haben *Jacoby* und *Schütze* gezeigt[1]), daß die Komplementwirkung durch Schütteln des Serums aufgehoben wird. *Courmont* und *Dufourt*[2]) sowie *Martin* und *Margarete Jacoby*[3]) fanden, daß die Schüttelinaktivierung von der Gegenwart des Sauerstoffs abhängig ist und *M.* und *M. Jacoby* beobachteten, daß das einmal von Sauerstoff befreite Serum sehr stabil gegen die Schüttelung bleibt, auch wenn wieder Sauerstoff zugeführt wird.

Bei der Bedeutung, welche man bei therapeutischen Wirkungen heute der Einwirkung von strahlender Energie auf biologisch wesentliche Substanzen zuschreiben muß, scheint es uns ratsam, die Einwirkung von Strahlen auf das Komplement einer besonderen Studie zu unterwerfen. Wie auch das Resultat ausfällt, in jedem Falle muß die Feststellung für die weiteren biologischen Erwägungen wichtig sein.

Unser Plan war, den Einfluß der Sonnenstrahlung auf das Komplement zu studieren, um physiologische Verhältnisse vor uns zu haben. Daß Sonnenbestrahlung durch Wärmewirkung bis in das kreisende Blut hinein wirksam sein kann, berichtet *Sonne*[4]), der bei Bestrahlung

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1909, Nr. 48; Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 4, 1910.

[2]) C. r. Soc. Biol. 72, 1912.

[3]) Diese Zeitschr. 69, 127, 1915.

[4]) Akt. med. scandinav. 54, 335, 1921; zitiert nach *Hausmann*, Grundzüge der Lichtphysiologie und Lichtpathologie 1923, S. 120.

mit sichtbaren Strahlen einen Anstieg der Temperatur von der Oberfläche gegen die Tiefe fand. Bei einer Hauttemperatur von 43,8° wurde in 0,5 cm Tiefe das Maximum von 47,5° erreicht.

W. Th. Bovie[1]) konnte Komplemente durch Bestrahlung mit dem kurzwelligsten Anteile der Tropensonne zerstören.

Mit künstlichen Strahlenquellen fanden *Abelin* und *Stiner*[2]), daß das Komplement durch ultraviolettes Licht zerstört wird, wenn das Serum in sehr dünner Schicht und in Verdünnungen angewandt wird, weil die kolloide Lösung die Strahlen absorbiert, so daß sie nur zu einem kleinen Teile des Serums gelangen.

Auch *Friedberger*[3]) fand Zerstörung des Komplements bei Bestrahlung mit ultravioletten Strahlen. Nur bei Bestrahlung von trockenem Serumpulver widerstand das Komplement der Strahlenwirkung.

Für unseren Zweck erschien uns die Bestrahlung mit Sonnenlicht am meisten geeignet, und zwar in der intensiven Weise, wie sie im Juni im Hochgebirge gegeben ist. Wir fanden in Davos ausreichende Wetterbedingungen und gingen folgendermaßen vor:

Die Versuche wurden auf der unbedeckten Veranda des Instituts ausgeführt, und zwar bei guter Besonnung. Ganz besonders hervorragende Sonnentage standen uns leider nicht zur Verfügung, aber immerhin recht gute Sonnentage. Ein quantitatives Maß ergeben die mit dem Graukeilphotometer erzielten Werte. Das Instrument und die Berechnungen verdanken wir der großen Freundlichkeit des Herrn Professor *Dorno.*

Als Versuchsgläser dienten kleine Bechergläser, die in einem besonderen Apparate direkt der Sonne zugeneigt befestigt werden konnten. Sie waren fast vollständig in ein großes Wasserbad versenkt. Um die Sonnenstrahlen ganz kontrollierbar nur von einer Seite herankommen zu lassen, waren alle Gläser mit schwarzem Lack überzogen, die Sonne konnte also nur von der unbedeckten Oberfläche aus an das Serum heran. Die Kontrollgläser waren auch an der Oberfläche mit schwarzem Papier bedeckt. Durch regelmäßige Temperaturmessungen wurde sichergestellt, daß während der Versuchszeit nur eine unerhebliche Temperatursteigerung der Versuchsflüssigkeiten eintrat. Sie ist außerdem insofern gleichgültig, weil sie Hauptversuch wie Kontrolle in gleicher Weise betrifft.

Als Komplement kam einmal frisches Meerschweinchenserum, außerdem Trockenkomplement zur Verwendung. Das uns von Herrn Professor *Küster* in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellte Präparat wird von der Firma Gans mit einem besonderen Verfahren durch ganz schnelle Trocknung aus Meerschweinchenserum hergestellt und zeigte sich gut wirksam.

Ambozeptor bezogen wir auch von der Firma Gans. Hammelblut stand uns zum Teil vom Davoser Schlachthof zur Verfügung. Außerdem erhielten wir frisches Hammelblut aus Zürich durch die große Freundlichkeit von Herrn Professor *Silberschmidt.*

---

[1]) Journ. of med. research. 38, 335, 1918; zitiert nach *Hausmann.*
[2]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 19, 1, 1913.
[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1914, Nr. 30.

Versuch 1. (3. Juni.)

Trockenkomplement 0,1 verdünnt auf 10 = $^1/_{10}$ Serum. Davon 3 ccm bestrahlt, 3 ccm als Kontrolle. Bestrahlung 11 Uhr 5 bis 11 Uhr 20 Minuten.

Himmel im allgemeinen bewölkt, aber Sonnenschein, der allmählich während der Beobachtung zunimmt. Titration (Ambozeptor 1 : 300):

Kein Unterschied zwischen bestrahltem und unbestrahltem Serum.

Versuch 2. (4. Juni.)

Trockenkomplement 0,1 verdünnt auf 10 = $^1/_{10}$ Serum. Davon 4,5 ccm bestrahlt, 4,5 ccm als Kontrolle. Bestrahlung 9 Uhr 20 bis 11 Uhr 20 Minuten.

Himmel wenig bewölkt, Sonne strahlend. Titration (Ambozeptor 1 : 300): Ohne Komplement keine Hämolyse.

	Bestrahlt:	Unbestrahlt:
0,1 Komplement:	inkomplette Hämolyse,	fast komplette Hämolyse.
0,2 ,,	fast komplette Hämolyse,	komplette Hämolyse.
0,4 ,,	komplette Hämolyse.	

Also geringe Abschwächung des bestrahlten Serums.

Versuch 3. (6. Juni.)

Trockenkomplement 0,1 verdünnt auf 20 = $^1/_{20}$ Serum. Davon 5,0 ccm bestrahlt, 5,0 ccm als Kontrolle. Bestrahlung 9 Uhr 38 bis 11 Uhr 38 Minuten, herrliches Sonnenwetter. Titration (Ambozeptor 1 : 300):

Kein Unterschied zwischen bestrahltem und unbestrahltem Serum.

Versuch 4. (6. Juni.)

Frisches Meerschweinchenserum, $^1/_{20}$ Serum. Davon 5,0 ccm bestrahlt, 5,0 ccm als Kontrolle. Bestrahlung 10 Uhr 8 bis 12 Uhr 8 Minuten, herrliches Sonnenwetter. Titration (Ambozeptor 1 : 300):

Kein Unterschied zwischen bestrahltem und unbestrahltem Serum.

Zusammenfassend zeigt sich also, daß *die Sonnenbestrahlung unter den gewählten Versuchsbedingungen das Komplement nicht oder (Versuch 2) nur unerheblich in seiner Wirksamkeit abschwächt.*

Dazu ist zu bemerken, daß die Bestrahlung, wie auch die vorgenommenen Messungen ergeben haben, eine recht intensive war und auch die Expositionszeit eine verhältnismäßig lange.

Nach den Versuchen von *Abelin* und *Stiner* wirken ultraviolette Strahlen nur zerstörend auf Komplement, wenn das Serum in dünner Schicht oder in starker Verdünnung bestrahlt wird. Beiden Bedingungen war in unseren Sonnenversuchen nicht genügt: Die Schicht war einige Zentimeter dick, die Verdünnung niemals größer als 20fach. Aber es kam uns auch nicht darauf an zu sehen, ob man durch Sonnenbestrahlung das Komplement überhaupt zerstören kann, sondern ob das Komplement unter Bedingungen, die irgendwie in physiologischer Breite liegen, geschädigt wird. Das ist nicht der Fall. Und so ist man für medizinische Fragen berechtigt, eventuell mit einer Beteiligung des Komplements bei Strahlenwirkung in den Grenzen zu rechnen, welche die Funktion dieser wichtigen Substanz nicht ausschalten. Wir hatten

schon erwähnt, daß nach *Sonne* mit Wirkungen auf das Serum in vivo bei Sonnenbestrahlung zu rechnen ist, *Loewy* und *Foerster*[1]) haben gezeigt, daß im Serum infolge der verdünnten Luft des Hochgebirges hämatopoietische Stoffe auftreten.

Jedenfalls ist es von Interesse, daß das sonst so labile Komplement sich gegen Sonnenbestrahlung verhältnismäßig widerstandsfähig gezeigt hat.

Zum Schluß sei es uns gestattet, Herrn Professor *Loewy* für die freundliche Aufnahme im Institut und die gütige Unterstützung unserer Versuche herzlichsten Dank zu sagen.

---

[1]) Diese Zeitschr. **145**, 318, 1924.

Studien über intermediären Kohlenhydratumsatz an der Leber bei gleichzeitiger Verfolgung des Gaswechsels (Norm, Hunger, Insulinwirkung, pankreoprive Leber). VII.

Von

Theodor Brugsch, Hans Horsters und **Giichi Shinoda.**

(Aus der II. medizinischen Klinik der Charité.)

(Eingegangen am 7. August 1924.)

Unser Studium über den intramediären Kohlenhydratumsatz in der Leber machten das Einbeziehen des Gaswechsels notwendig. Zu diesem Behufe mußte zunächst unsere Methodik eine entsprechende Umarbeitung erfahren, um einmal die früheren Versuche mit den jetzigen vergleichen zu können, sodann um gleichzeitig mit der Verfolgung des intermediären Stoffwechselversuches gleichzeitig den Gaswechsel verfolgen zu können.

Wir haben das Problem folgendermaßen gelöst.

Methodik.

Dem durch Nackenschlag getöteten Tiere wird sofort die Leber (eventuell die Muskulatur) entnommen, die Organe mit einer Ringerlösung, die 0,1 bis 0,3 bzw. 0,5 Proz. Glucose enthält, im Verhältnis von 10 g Organ zu 100 ccm Ringerlösung verrieben und durch eine Mullgase filtriert. Auf diese Weise wurde eine bindegewebefreie Parenchymaufschwemmung erzielt. Von diesen Emulsionen wurden je 30 ccm in zwei genau kalibrierte mit je zwei Dreiwegshähnen am Glasstopfen versehenen etwa 300 ccm fassenden Gefäßen gebracht und unter ganz gleichen Bedingungen in einem Schüttelapparat bei 40° C 50 Minuten lang geschüttelt. Das eine Gefäß wurde alsdann auf den O_2- und CO_2-Gehalt der Luft im kalibrierten Kolben mit Hilfe des *Haldane*schen Apparats untersucht, wobei die CO_2, die noch in der Suspension adsorbiert war, mit verdünnter H_2SO_4 ausgetrieben wurde, während der Inhalt des zweiten Gefäßes, der sich in bezug auf Menge und Luftvolumen gleich wie der des ersten Gefäßes verhielt, auf Zucker (nach *Folin-Wu*), anorganische Phosphorsäure (*Embden*), Milchsäure (*Hirsch-Kaufmann*) untersucht wurde. Vor Anstellung des Durchschüttlungsversuchs wurde ein aliquoter Teil der Organsuspension ebenfalls auf Zucker, anorganische Phosphorsäure und Milchsäure untersucht. Unser methodisches Vorgehen ist in unseren früheren Mitteilungen I, III, V in dieser Hinsicht geschildert worden. Die Berechnung der Werte geschieht auf 10 g des Organs, um indessen die nachträgliche Möglichkeit zu bieten, eine Berechnung auf

das Organparenchym, eventuell mit Umrechnung auf Trockensubstanz, wurden von allen Organsuspensionen Kjeldahlanalysen durchgeführt und daraus durch Multiplikation mit dem Werte 6,25 der Eiweißwert der Suspension berechnet.

Bei der Durchführung der Gasanalysen wurden wir in dankenswerter Weise von Frl. *Stäuber* (landwirtschaftliche Hochschule, physiologisches Institut) unterstützt.

A. Versuche an normalgenährten Tieren.

Versuch 1 (Jounal III).

10 g Meerschweinchenleber werden zu 100 ccm Ringerlösung durch Verreiben suspendiert; die Ringerlösung enthält 0,11 $NaHCO_3$ auf 100 und 0,1 Proz. Glucose. 30 ccm Suspension werden bei 40° C mit Luft 50 Minuten lang im kalibrierten Gefäß (300 ccm) geschüttelt.

Eiweißgehalt der Suspension = 1,23 Proz.

Auf 30 ccm Lebersuspension berechnet, beträgt der O_2-Verbrauch nach der Schüttelung mit Luft = 1,38 ccm, die CO_2-Produktion = 1,828 ccm; von der CO_2-Produktion ist abzuziehen diejenige Menge CO_2, die aus der $NaHCO_3$-Lösung durch Eintritt von anorganischer Phosphorsäure bzw. Milchsäure frei geworden ist. Dieser Wert ist durch Titration der enteiweißten (durch Alkohol 5 : 1) Organsuspension vor und nach der Schüttelung mit n/100 NaOH-Lösung und Alizarinrot als Indikator bestimmt worden. Der Titrationswert für 30 ccm Suspension beträgt 2,5 ccm CO_2 = 1,1 mg CO_2 = 0,5103 ccm CO_2 reduziert auf 0° und 760 mm Hg.

Mithin beträgt die wirkliche CO_2-Produktion = 1,828 − 0,561 = 1,367 ccm.

$$\text{R.-Q.} = \frac{CO_2}{O_2} = \frac{1{,}367}{1{,}38} = \text{etwa } 1.$$

Mithin berechnet auf 10 g Leber:

CO_2-Produktion	= 4,57 ccm
O_2-Verbrauch	= 4,59 „
Respirationsquotient . .	= 1

Auf 10 g Leber berechnet:

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Milchsäure mg	Anorganisches H_3PO_4 mg
vorher	153	18,0	18
nachher . . .	160	10,8	13
Bilanz	+ 7	— 7,2	— 5

Da für jedes Milligramm Glucose bzw. Milchsäure, die verbrennen, 1,467 mg CO_2 frei werden (reduziert auf 0° und 760 mm Hg), bzw. jeder Kubikzentimeter CO_2 der Verbrennung von 1,3364 mg Glucose bzw. Milchsäure entspricht, so ist bei dem respiratorischen Quotienten von (annähernd) 1 die Annahme berechtigt, daß der gebildeten CO_2 eine Zucker- bzw. Milchsäureverbrennung von 6,1 mg entspricht. Die verschwundene Milchsäure beträgt 7,2 mg. Die Werte bewegen sich innerhalb der Fehlergrenzen.

Da daneben aber noch Bildung kleiner Zuckermengen einhergeht, wie auch Verschwinden von anorganischer H_3PO_4, so ist die Annahme gerechtfertigt, daß neben der Verbrennung Aufbau und Abbau im Kohlenhydratumsatz für die normale Leber statthat.

Versuch 2 (Journal III).

10 g Meerschweinchenleber werden in 100 ccm Ringerlösung, die 0,11 Proz. $NaHCO_3$ enthalten nach Verreiben suspendiert. Glucosegehalt der Ringerlösung 0,1 Proz. 30 ccm werden bei 40° C im 300-ccm-Gefäß 50 Minuten lang geschüttelt.

Eiweißgehalt der Suspension 1,23 Proz.

Für 10 g Organ berechnet:

O_2-Verbrauch . . . . . = 7,06 ccm
CO_2-Produktion . . . . = 7,0 „
(nach Abzug der aus $NaHCO_3$ frei gewordenen CO_2)

$$R.\text{-}Q. = \frac{7{,}0}{7{,}06} = \text{etwa } 1.$$

Auf 10 g Organ berechnet:

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Milchsäure mg	Anorganisches H_3PO_4 mg
vorher	165	15,0	0,029
nachher . . .	150	15,0	0,034
Bilanz	— 15	± 0	+ 0,005

Da der respiratorische Quotient = 1 ist, so ist die Annahme erlaubt, daß 7,0 ccm CO_2 = 9,4 mg verbrannter Glucose bzw. Milchsäure entsprechen. Da 15 mg Zucker (auf Glucose berechnet) verschwunden sind, so ist der Schluß berechtigt, daß die normale Leber hier Kohlenhydrat veratmet hat, wobei gleichzeitig intermediäre Umsetzungen über Hexosediphosphorsäure (Spaltungen) stattgefunden haben.

Versuch 4 (Journal III).

10 g Meerschweinchenleber werden zu 100 ccm mit Ringerlösung suspendiert, die *keine* $NaHCO_3$ enthält. Glucosegehalt 0,1 Proz. 30 ccm Lebersuspension werden im 300-ccm-Gefäß bei 40° 50 Minuten lang geschüttelt.

Eiweißgehalt der Suspension 1,23 Proz.

Berechnung der Werte auf 10 g Leber:

CO_2-Produktion . . . . = 1,58 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 1,399 „
Respirationsquotient . . = 1,1

Auf 10 g Organ berechnet:

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Milchsäure mg	Anorganisches H_3PO_4 mg
vorher	270	22	27
nachher . . .	370	19	22
Bilanz	+ 100	— 3	— 5

1,58 mg CO_2 entsprechen 2,112 mg verbrannter Milchsäure, was mit dem Verlust von — 3 mg Milchsäure sich deckt. Gleichzeitig spielt die diastatische Zuckerbildung hier eine große Rolle (+ 100 mg!) und spielen sich intermediäre Aufbauprozesse (über Hexosediphosphorsäure) ab.

Versuch 5.

10 g Meerschweinchenleber werden zu 100 ccm mit Ringerlösung, die 0,1 Proz. Glucose aber *keine* $NaHCO_3$ enthält, suspendiert. 30 ccm Suspension werden im 300-ccm-Gefäß bei 40° 50 Minuten lang geschüttelt. *Zusatz von ½ ccm eines alkoholischen, nach Abdunstung in Wasser aufgenommenen Trockenhefeextraktes (1 : 10).*

Eiweißgehalt der Suspension 1,4 Proz.

Berechnung der Werte auf 10 g Leber:

CO_2-Produktion . . . . = 1,65 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 1,67 „
Respirationsquotient . . = 1,0

Auf 10 g Leber berechnet:

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Milchsäure mg	Anorganisches H_3PO_4 mg
vorher	140	30,0	27
nachher . . .	150	20,3	29
Bilanz	+ 10	— 9,7	+ 2

1,65 mg CO_2 entsprechen bei der Verbrennung 2,205 mg Milchsäure. Das Milchsäuredefizit ist hier größer, so daß die Annahme nicht unberechtigt erscheint, daß die Milchsäure einen Übergang in Zucker gefunden hat, da ein Zuckerzuwachs von 10 mg besteht. Die Werte der anorganischen H_3PO_4 sind wenig geändert, indessen ist die Annahme einer solchen Umwandlung von Milchsäure in Zucker unter Zusatz eines Hefevitamins naheliegend (vgl. hierzu die Mitteilung III von *Shinoda*).

Versuch 6.

10 g Normalmeerschweinchenleber werden zu 100 ccm mit Ringerlösung, die 0,1 Proz. Glucose aber kein $NaHCO_3$ enthält, suspendiert.

30 ccm werden im 300-ccm-Gefäß bei 40° C 50 Minuten lang geschüttelt, *nachdem vorher 10 Einheiten Insulin zugesetzt* worden waren.

Eiweißgehalt der Suspension 1,47 Proz.

Berechnung der Werte auf 10 g Leber:

CO_2-Produktion . . . . = 1,44 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 1,56 „
Respirationsquotient . . = 0,92

Auf 10 g Leber berechnet:

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Milchsäure mg	Anorganisches H_3PO_4 mg
vorher . . .	190	4	21
nachher . . .	170	12	22
Bilanz	— 20	+ 8	+ 1

Der Wert von 1,44 mg CO_2 entspricht einem Wert verbrannten Kohlenhydrats von 1,9 mg. Einem Verschwinden von 20 mg Zucker (auf Glucose berechnet) steht die Verbrennung von 1,9 mg Kohlenhydrat und die Bildung von 8 mg Milchsäure gegenüber. Das Defizit von 10 mg Glucose rechnungsmäßig ist aus dem Versuche nicht aufzuklären. Die Tatsache, daß die

anorganische H_3PO_4 kaum geändert ist, weist darauf hin, daß Bildung einer Hexosediphosphorsäure nach einer oder der anderen Richtung nicht in Frage kommen. Es wäre die Bildung intermediärer Produkte (Säuren) möglich, die in dieser Bilanz nicht zum Ausdruck kommen.

Versuch 19 (Journal III).

10 g Meerschweinchenleber werden nach Verreiben zu 100 ccm suspendiert mit Ringerlösung, die *0,5 Proz. Glucose*, aber *kein* $NaHCO_3$ enthält.

30 ccm werden im etwa 300-ccm-Gefäß bei 40° 50 Minuten lang geschüttelt.

Eiweißgehalt = 1,4 Proz.

Berechnung der Werte auf 10 g Leber:

CO_2-Produktion . . . . = 2,13 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 2,17 „
Respirationsquotient . . = 0,98

Auf 10 g Leber berechnet:

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Anorganisches H_3PO_4 mg	Milchsäure mg
vorher	495	1	60
nachher . . .	490	57	15
Bilanz	— 5	+ 56	— 55

Die Größe verbrannten Kohlenhydrats beträgt 2,85 mg Kohlenhydrat bzw. Milchsäure; verschwunden sind indessen 55 mg Milchsäure und 5 mg Kohlenhydrat. Außerdem sind 56 mg anorganische H_3PO_4 frei geworden. Es müßten demgemäß sehr erhebliche Mengen Zucker aus anorganischer Phosphorsäure frei gemacht worden sein, für die aber kein Zuckerzuwachs vorhanden ist. Eine Ausdeutung ist nicht möglich, so daß hier mit der Möglichkeit von Analysenfehlern gerechnet werden muß, da der Versuch vollständig aus der Reihe fällt.

Versuch 20 (Journal III).

10 g Meerschweinchenleber werden nach Verreiben zu 100 ccm suspendiert mit Ringerlösung, die 0,5 Proz. Glucose, aber kein $NaHCO_3$ enthält.

a) 30 ccm werden im 300-ccm-Gefäß bei 40° 50 Minuten lang geschüttelt.

Eiweißgehalt = 1,44 Proz.

Berechnung der Werte auf 10 g Leber:

CO_2-Produktion . . . . = 1,697 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 1,676 „
Respirationsquotient . . = 1

Auf 10 g Leber berechnet:

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Anorganisches H_3PO_4 mg	Milchsäure mg
vorher	530	14	15
nachher . . .	480	13	31
Bilanz	— 50	— 1	+ 16

Die Menge verbrannten Kohlenhydrats beträgt aus der CO_2-Produktion berechnet = 2,3 mg. Verschwunden sind 50 mg Kohlenhydrat, neugebildet 16 mg Milchsäure, das sind 34 mg; davon sind verbrannt 2,3 mg. Intermediäre Aufbauvorgänge sind aus den unveränderten Werten anorganischer H_3PO_4 nicht anzunehmen.

b) *Der gleiche* Versuch wurde an der Lebersuspension (30 ccm) *mit Zusatz von 10 Einheiten Insulin* durchgeführt.

Berechnung der Werte auf 10 g Leber:

CO_2-Produktion . . . . = 1,76 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 1,9 „
Respirationsquotient . . = 0,862

Auf 10 g Leber berechnet:

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Anorganisches H_3PO_4 mg	Milchsäure mg
vorher	530	17	15
nachher . . .	480	16	22
Bilanz	— 50	— 1	+ 7

Die aus der gebildeten CO_2 zu errechnende Kohlenhydratmenge würde in der Annahme, daß nur CO_2 verbrannt worden ist (tatsächlich beträgt der Respirationsquotient 0,862 und nicht 1!) = 2,4 mg Kohlenhydrat betragen.

Intermediäre Aufbauvorgänge sind aus dem Stabilbleiben der anorganischen H_3PO_4-Werte nicht anzunehmen.

Überblickt man diese gesamten Versuche an normalen Meerschweinchenlebern gut genährter, in der vollen Ernährung getöteter Tiere, so läßt sich für die respiratorischen Verhältnisse der Leber folgendes sagen:

Der Respirationsquotient beträgt im:

Versuch 1 = 1,
„ 2 = 1,
„ 4 = 1,1,
„ 5 = 1,0 (Zusatz von Hefeextrakt),
„ 6 = 0,92 (Zusatz von Insulin in vitro),
„ 19 = 0,98,
„ 20a = 1,
„ 20b = 0,862 (Zusatz von Insulin in vitro).

Daraus ist der allgemeine Schluß berechtigt, daß die normale Meerschweinchenleber eines wohlgenährten Meerschweinchens einen respiratorischen Quotienten aufweist, der Verbrennung von Kohlenhydrat bzw. Milchsäure bedeutet. Insulinzusatz drückt den respiratorischen Quotienten herunter.

Was den *Umfang der respiratorischen Größe* anlangt, bemessen nach dem O_2-Verbrauch, so läßt sich ein einwandfreier Vergleich nur durchführen unter Berechnung der Werte auf 1 g Eiweißgehalt der Leber.

O_2-Verbrauch pro Gramm Lebereiweiß in 50 Minuten bei 40° C:

Versuch	1	= 3,73 ccm	die Ringerlösung enthält 0,11 Proz. $NaHCO_3$ und 0,1 Proz. Glucose,
„	2	= 5,74 „	
„	4	= 1,14 „	Ringerlösung *ohne* $NaHCO_3$ mit 0,1 Proz. Glucose,
„	5	= 1,19 „	Ringerlösung *ohne* $NaHCO_3$ mit 0,1 Proz. Glucose (Zusatz von Hefeextrakt),
„	6	= 1,07 „	Ringerlösung *ohne* $NaHCO_3$ mit 0,1 Proz. Glucose (Zusatz von Insulin in vitro),
„	19	= 1,55 „	Ringerlösung *ohne* $NaHCO_3$ mit 0,5 Proz. Glucose,
„	20a	= 1,19 „	Ringerlösung *ohne* $NaHCO_3$ mit 0,5 Proz. Glucose,
„	20b	= 1,21 „	Ringerlösung *ohne* $NaHCO_3$ mit 0,5 Proz. Glucose (Zusatz von Insulin in vitro).

Die Atmungsgröße ist in der Lebersuspension mit Ringerlösung ohne $NaHCO_3$ pro Gramm Eiweiß Leberparenchym annähernd konstant. Insulinzusatz beeinflußt in vitro die Atmungsgröße wenig oder gar nicht. Ein Zusatz von 0,11 Proz. $NaHCO_3$ zur Ringerlösung steigert die Atmungsgröße wesentlich (um das 3- bis 5fache). Vitaminzusatz (Hefeextrakt) läßt die Atmungsgröße unbeeinflußt.

Was die intermediären Kohlenhydratverhältnisse anlangt, so zeigen Versuch 1, 2, 4, daß der veratmeten Menge Kohlenhydrats (annähernd) ein Verschwinden von Zucker bzw. Milchsäure entspricht. Versuch 5 (Hefeextraktzusatz!) läßt den Schluß zu, daß aus Milchsäure ein Zuckeraufbau neben der Verbrennung von Kohlenhydrat stattgefunden hat. In Versuch 6 ist das Zuckerdefizit größer als der Verbrennung von Kohlenhydrat und Milchsäure bzw. der Milchsäurebildung entspricht. In Versuch 19 ist das Milchsäuredefizit unerklärbar groß, in Versuch 20 das Kohlenhydratdefizit. Es wäre denkbar, daß der Zusatz von 0,5 Proz. Glucose in der Ringerlösung die Bildung intermediärer Spaltprodukte des Zuckers bewirkt hat.

B. Versuche an Lebern von Meerschweinchen, die 24 Stunden bzw. länger gehungert haben.

Versuch 7 (Journal III).

10 g Leber eines Meerschweinchens, das 24 Stunden gehungert hat, und 2 Stunden vor dem Tode mit 20 Einheiten Insulin intravenös gespritzt wurde, werden suspendiert zu 100 ccm mit Ringerlösung, die 0,1 Proz. Glucose ohne $NaHCO_3$ enthält.

Eiweißgehalt der Suspension = 1,36 Proz.

30 ccm der Suspension werden 50 Minuten lang bei 40° C in einem 300-ccm-Gefäß geschüttelt.

Auf 10 g Leber berechnet:

CO_2-Produktion	= 2,24 ccm
O_2-Verbrauch	= 2,77 „
Respirationsquotient . .	= 0,81

Auf 10 g Leber berechnet:

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Anorganisches H_3PO_4 mg	Milchsäure mg
vorher	280	11	19
nachher . . .	440	15	38
Bilanz	+ 160	+ 4	+ 19

Die Leber befindet sich im Zustande starker Zuckerausschüttung, Milchsäurebildung; auch zeigen die positiven Werte der anorganischen H_3PO_4, daß Hexosediphosphorsäure zerlegt worden ist. Auffällig ist der niedrige respiratorische Quotient von 0,81, der darauf hinweist, daß die Leber nicht *nur* Kohlenhydrat verbrannt hat, sondern daß hier entweder Kohlenhydrat *und* Fette verbrannt sind oder daß neben der Kohlenhydratverbrennung noch eine Zuckerbildung aus Fetten stattgefunden hat.

Versuch 8 (Journal III).

10 g Leber eines Meerschweinchens, das 24 Stunden gehungert hat, werden zu 100 ccm mit Ringerlösung, die 0,1 Proz. Glucose, aber kein $NaHCO_3$ enthält, suspendiert.

Je 30 ccm werden in 300-ccm-Gefäßen: a) ohne Insulinzusatz, b) *mit Insulinzusatz* (10 Einheiten) bei 40° C 50 Minuten lang geschüttelt.

Eiweißgehalt der Suspension = 1,23 Proz.

a) Berechnet auf 10 g Leber:

O_2-Verbrauch . . . . . = 3,0 ccm

b) Berechnet auf 10 g Leber (Insulinzusatz):

O_2-Verbrauch . . . . . = 3,82 ccm

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Anorganisches H_3PO_4 mg	Milchsäure mg
	a) Berechnet auf 10 g Leber		
vorher	170	24	20
nachher . . .	170	25	20
Bilanz	± 0	+ 1	± 0
	b) Berechnet auf 10 g Leber		
vorher	170	24	20
nachher . . .	178	23	26
Bilanz	+ 8	— 1	+ 6

Der O_2-Verbrauch, auf verbranntes Kohlenhydrat berechnet, ergibt bei 10 g Leber *ohne* Insulin 4 mg, mit Insulin 5,1 mg. Die intermediären Kohlenhydratumsätze ergaben nur für den Zusatz von Insulin ein Plus an Zucker und Milchsäure, ohne Insulin weder ein Plus noch ein Minus. Auch die Bildung in oder aus Hexosediphosphorsäure kommt hier nicht in Frage.

Versuch 9 (Journal III).

Meerschweinchen, das 24 Stunden gehungert hat und 20 Einheiten Insulin injiziert bekommt. 2 Stunden nach der Injektion getötet.

10 g Leber zu 100 ccm mit Ringerlösung suspendiert, die 0,1 Proz. Glucose, aber kein $NaHCO_3$ enthält.

Eiweißgehalt der Suspension = 1,45 Proz.

Je 30 ccm der Suspension werden a) ohne Insulinzusatz, b) mit 10 Einheiten Insulinzusatz in 300-ccm-Gefäßen bei 40° C 50 Minuten lang geschüttelt.

Auf 10 g Leber berechnet:

a) ohne Insulinzusatz in vitro:

CO_2-Produktion . . . . = 2,191 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 2,233 „
Respirationsquotient . . = 0,98

b) *mit* Insulinzusatz in vitro:

CO_2-Produktion . . . . = 1,53 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 2,03 „
Respirationsquotient . . = 0,75

Für 10 g Leber berechnet:

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Anorganisches H_3PO_4 mg	Milchsäure mg
	a) ohne Insulinzusatz		
vorher	144	21	12
nachher . . .	142	12	12
Bilanz	—2	—9	±0
	b) mit Insulinzusatz		
vorher	144	21	12
nachher . . .	142	9	15
Bilanz	—2	—12	+3

Die veratmete Zuckermenge bei a) *ohne* Insulinzusatz beträgt 2,9 mg, bei b) mit Insulinzusatz 2,0 mg. Diese Werte lassen sich im Intermediärversuch wiederfinden. Auffällig ist die starke Negativität der anorganischen H_3PO_4, was auf energische Bildung von Hexosediphosphorsäure hinweist.

Versuch 11 (Journal III).

Meerschweinchen, das 24 Stunden gehungert und 20 Einheiten Insulin bekommen hat. 2 Stunden später Beginn des hypoglykämischen Komplexes, in dem es getötet wird. 10 g Leber zu 100 ccm mit Ringerlösung, die kein $NaHCO_3$ enthält, aber 0,3 Proz. Glucose.

Eiweißgehalt der Suspension = 1,663 Proz.

Je 30 ccm Suspension werden in 300-ccm-Gefäßen a) ohne Insulinzusatz, b) mit Insulinzusatz bei 40° C 50 Minuten lang geschüttelt.

Auf 10 g Leber berechnet:

a) ohne Insulinzusatz:

CO_2-Produktion . . . . = 1,77 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 2,53 „
Respirationsquotient . . = 0,7

b) mit Insulinzusatz:

CO_2-Produktion . . . . = 1,598 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 1,965 „
Respirationsquotient . . = 0,81

Auf 10 g Leber berechnet:

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Anorganisches H_3PO_4 mg	Milchsäure mg
	a) ohne Insulinzusatz		
vorher	?	14	19
nachher . . .	387	15	19
Bilanz	—	+ 1	± 0
	b) mit Insulinzusatz		
vorher	?	14	19
nachher . . .	429	17	26
Bilanz	—	+ 3	+ 7

Die starke Bildung von Zucker trotz des hypoglykämischen Komplexes in der Leber (387 mg statt 300 mg der Ringersuspension) lassen die starke zuckerbildende Tendenz der Leber erkennen; daher ist auch die einfachste Deutung des respiratorischen Quotienten von 0,7, daß hier Zuckerbildung aus Fett stattfindet. Eine Aufbautendenz zur Hexosediphosphorsäure ist aus den Werten der anorganischen H_3PO_4 nicht erkennbar.

Versuch 12 (Journal III).

Meerschweinchen, das 24 Stunden gehungert hat. Die Leber (10 g) wird zu 100 ccm mit Ringerlösung suspendiert, die 0,5 Proz. Glucose enthält, aber kein $NaHCO_3$.

Je 30 ccm der Suspension werden in etwa 300-ccm-Gefäßen a) ohne Insulinzusatz, b) mit Insulinzusatz (10 Einheiten) bei 40° C 50 Minuten lang geschüttelt.

Eiweißgehalt der Suspension = 1,63 Proz. Eiweiß.

Für 10 g Leber berechnet:

a) *ohne* Insulinzusatz:

CO_2-Produktion . . . . = 2,13 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 2,17 „
Respirationsquotient . . = 1

b) mit Insulinzusatz:

CO_2-Produktion . . . . = 1,69 ccm
O_2-Produktion . . . . . = 1,69 „
Respirationsquotient . . = 1

Für 10 g Leber berechnet:

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Anorganisches H_3PO_4 mg	Milchsäure mg
	a) ohne Insulinzusatz		
vorher	500	24	?
nachher . . .	450	24	36
Bilanz	— 50	± 0	—
	b) mit Insulinzusatz		
vorher	500	24	
nachher . . .	500	24	20
Bilanz	± 0	± 0	—

Es ist lediglich Kohlenhydrat bzw. Milchsäure verbrannt worden, intermediäre Hexosediphosphorsäureumsetzungen sind nicht zu erschließen.

Versuch 14 (Journal III).

Meerschweinchen, das 24 Stunden gehungert hat. 10 g Leber zu 100 ccm Ringerlösung suspendiert, die 0,5 Proz. Glucose, aber kein $NaHCO_3$ enthält.

Eiweißgehalt der Suspension = 1,68 Proz.

30 ccm Suspension werden *nach Zusatz von 0,4 ccm Pankreaskochsaft* 50 Minuten lang bei 40° C in einem 300-ccm-Gefäß geschüttelt.

Eiweißgehalt der Suspension = 1,68 Proz.

Auf 10 g Leber berechnet:

CO_2-Produktion . . . . = 1,55 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 1,7 „
Respirationsquotient . . = 0,9

•Zuckergehalt vorher . . 0,500 mg
„ nachher . . 0,502 „
+ 0,002 mg

Versuch 16 (Journal III).

Meerschweinchen, das 24 Stunden gehungert hat. 10 g Leber zu 100 ccm Ringerlösung suspendiert, die 0,5 Proz. Glucose, aber kein $NaHCO_3$ enthielt.

Eiweißgehalt der Suspension = 1,61 Proz.

Je 30 ccm werden in 300-ccm-Gefäßen a) ohne Insulinzusatz. b) mit Insulinzusatz je 50 Minuten lang bei 40° C geschüttelt.

Auf 10 g Leber berechnet:

a) ohne Insulinzusatz:

CO_2-Produktion . . . . = 1,75 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 1,45 „
Respirationsquotient . . = 1,2

b) mit Insulinzusatz:

CO_2-Produktion . . . . = 2,06 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 1,88 „
Respirationsquotient . . = 1,1

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Anorganisches H_3PO_4 mg	Milchsäure mg
	a) ohne Insulinzusatz		
vorher	463	17	30
nachher . . .	438	18	38
Bilanz	— 25	+ 1	+ 8
	b) mit Insulinzusatz		
vorher	463	17	30
nachher . . .	485	19	22
Bilanz	+ 22	+ 2	— 8

Die Kohlenhydratmilchsäurebilanzen im Intermediärversuche sind ohne Iusulinzusatz negativ (— 17 mg), wobei nur rund 2 mg veratmet sein können, im zweiten Versuch mit Insulinzusatz positiv (+ 14 mg). Wesentliche Änderungen der anorganischen H_3PO_4-Werte sind nicht zu konstatieren.

Versuch 18 (Journal III).

Meerschweinchen, das 24 Stunden gehungert hat. 10 g Leber zu 100 ccm Ringerlösung mit 0,5 Proz. Glucose ohne $NaHCO_3$ aufgeschwemmt.

30 ccm der Suspension werden bei 40° C 50 Minuten lang in einem etwa 300-ccm-Gefäß geschüttelt.

Eiweißgehalt der Suspension = 1,54 Proz.

Für 10 g Leber berechnet:

CO_2-Produktion . . . . = 2,13 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 1,90 „
Respirationsquotient . . = 1,1

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Anorganisches H_3PO_4 mg	Milchsäure mg
vorher	0,500	16	20
nachher . . .	0,493	17	20
Bilanz	— 0,007	+ 1	± 0

Aus der CO_2-Produktion ist eine Verbrennung von rund 3 mg Kohlenhydrat abzuleiten, der ein Verschwinden von 7 mg Zucker gegenübersteht.

Versuch 23 (Journal III).

Meerschweinchen, das 24 Stunden gehungert hat und 20 Einheiten Insulin intravenös erhält; das Tier wird im hypoglykämischen Komplex getötet.

10 g zu 100 ccm Ringerlösung mit 0,5 Proz. Glucose ohne $NaHCO_3$. 30 ccm der Suspension werden in einem 300-ccm-Gefäß bei 40° C 50 Minuten lang geschüttelt.

Eiweißgehalt der Suspension = 1,62 Proz.

Auf 10 g Leber berechnet:

CO_2-Produktion . . . . = 5,0 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 6,3 „
Respirationsquotient . . = 0,79

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Anorganisches H_3PO_4 mg	Milchsäure mg
vorher	510	4	?
nachher . . .	444	27	15
Bilanz	— 66	+ 23	—

Versuch 10 (Journal III).

Meerschweinchen, das 3 Tage gehungert hat. 10 g Leber suspendiert zu 100 ccm mit Ringerlösung, die 0,1 Proz. Glucose, aber kein $NaHCO_3$ enthält.

Je 30 ccm werden in einem 300-ccm-Gefäß bei 40° C 50 Minuten lang geschüttelt, a) ohne Insulinzusatz, b) mit Insulinzusatz (10 Einheiten).

Eiweißgehalt der Suspension = 1,61 Proz.

Auf 10 g Leber berechnet:

a) *ohne* Insulinzusatz:

CO_2-Produktion . . . . = 1,52 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 2,57 „
Respirationsquotient . . = 0,59

b) mit Insulinzusatz:

CO_2-Produktion . . . . = 2,07 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 3,0 „
Respirationsquotient . . = 0,69

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Anorganisches H_3PO_4 mg	Milchsäure mg
	a) ohne Insulinzusatz		
vorher	168	21	38
nachher . . .	169	15	64
Bilanz	+ 1	— 6	+ 26
	b) mit Insulinzusatz		
vorher	169	21	38
nachher . . .	180	25	80
Bilanz	+ 11	+ 4	+ 42

Der niedrige respiratorische Quotient läßt sich auf Verbrennung von Fett ausdeuten, aber ebensogut als Verbrennung von Kohlenhydrat und Bildung von Zucker aus Fett. Die starke zuckerbildende Tendenz ergibt sich aus den positiven Zuckerwerten wie positiven Milchsäurewerten. Die negativen Werte für anorganisches H_3PO_4 im Versuch a) (*ohne* Insulin) spricht für intermediären Aufbau von Hexosediphosphorsäure.

Zusammenfassung der Versuche unter B.

Der respiratorische Quotient in den Hungerversuchen ergibt für 24stündigen Hunger:

Ohne Insulin in vitro		Mit Insulin in vitro		Mit Insulin in vivo		Insulin in vivo et vitro	
			für 24stündigen Hunger				
Versuch 8a	?	Versuch 8b	?	Versuch 7	0,81	Versuch 9b	0,75
„ 10a	1	„ 10b	1	„ 9a	0,98	„ 11b	0,81
„ 14	0,9	„ 16b	1,1	„ 11a	0,7		
Zusatz von Pankreaskochsaft				Beginn d. hypoglykäm. K.			
Versuch 16a	1,2			Versuch 23	0,79		
				hypoglykäm. Komplex			
„ 18	1,1						
			für 3tägigen Hunger				
Versuch 10a	0,59	Versuch 10b	0,69	—		—	

Es geht aus dieser Zusammenstellung mit Deutlichkeit hervor, daß der respiratorische Quotient der Leber bei einem 24stündigen Hungertiere etwa 1 ist, daß er aber nach mehrtägigem Hunger sinkt (auf 0,59, Versuch 11a). *Insulin in vivo erniedrigt den respiratorischen Quotienten, besonders im hypoglykämischen Stadium des Tieres.*

Zusatz von Insulin in vitro des Versuchs vermag vielleicht auch Änderungen des respiratorischen Quotienten herbeizuführen, jedoch unwesentlicher und mehr zufälliger Art, die ebensogut auf das dem Insulin zugefügte Desinfektionsmittel zurückgeführt werden könnten.

Größe des O_2-Verbrauchs, berechnet auf 1 g Eiweiß der Leber (Dauer des Atmungsversuchs 50 Minuten bei 40° C. Die Gaswerte reduziert auf 0° und 760 mm Hg). *24stündiger Hungerversuch.*

Leber[1]**.**

Ohne Insulin in vitro ccm		Mit Insulin in vitro ccm		Mit Insulin in vivo ccm		Insulin in vivo et vitro ccm	
24stündiger Hungerversuch							
Versuch 8a	2,44	Versuch 8b	3,11	Versuch 7	2,04	Versuch 9b	1,40
„ 12a	1,31	„ 12b	1,04	„ 9a	1,54	„ 11b	1,19
„ 14	1,01			„ 11a	1,52		
Zusatz von Pankreaskochsaft				„ 23	3,89		
Versuch 18	1,23						
3tägiger Hunger							
Versuch 10a	1,60	Versuch 10b	1,87	—		—	

Danach hält sich der O_2-Verbrauch auch nach 24-Stundenhunger annähernd (durchschnittlich allerdings erhöht!) auf dem O_2-Werte der normalernährten Leber (Durchschnitt aus den Versuchen 4, 5, 6, 20 = 1,23 ccm, Durchschnitt aus den Versuchen 8a, 12a, 14, 18 = 1,50 ccm), in dem Falle dreitägigen Hungers ist der O_2-Wert auf 1,60 ccm gestiegen. Bei Insulin in vivo gespritzten Tieren liegt der Durchschnittswert stark erhöht (Versuch 7, 9a, 11a, 23 = 2,25 ccm), wobei besonders die Erhöhung des Wertes in Versuch 23 auffält, wo es sich um ein Tier im ausgesprochenen hypoglykämischen Komplex handelt, während z. B. das Tier 11 noch keinen ausgesprochenen hypoglykämischen Komplex aufwies. *Insulinzusatz in vitro löst zwar in einigen Fällen eine Erhöhung des O_2-Wertes aus, in anderen Fällen aber vermag es die Wirkung nicht zu steigern oder sogar herabzudrücken.*

Danach erscheint es uns also erwiesen, daß bei der hungernden Leber die Atmungsgröße wächst, und daß in vivo Insulin dieses Wachsen begünstigt, unter Umständen sogar besonders stark, wie z. B. im hypoglykämischen Komplex.

Welche Bedeutung kommt dieser Vergrößerung des Atmungswertes zu?

Wir hatten gefunden, daß die Insulinwirkung eine Erniedrigung des respiratorischen Quotienten zeigt und hatten die Frage diskutiert, ob nicht hier eine Zuckerbildung aus Fett eine Rolle spielt, die zum O_2-Verbrauch führt, ohne daß der O_2-Verbrauch völlig durch die abgeatmete CO_2-Luft wieder zum Vorschein kommt. Einer solchen Auffassung ist das Studium des intermediären Umsatzes in den genannten Versuchen durchaus günstig.

In dem Versuch 7 finden wir starke Zuckerausschüttung und Milchsäurebildung, so daß nach der augenblicklichen Tendenz der Insulinsituation in der Leber die Zuckerbildung aus Fett durchaus verständlich ist. Im Versuch 9 besteht aus dem Verschwinden der anorganischen H_3PO_4 starke Aufbautendenz, auch im Versuch 11 muß schon nach dem Zuckerwerte die Zuckerbildungstendenz als wahrscheinlich angenommen werden, während z. B. Versuch 14, 16, 18 durchaus keine Zuckerausschüttungstendenz zeigen.

Danach darf man das Sinken des respiratorischen Quotienten bzw. die Steigerung des O_2-Verbrauchs ungezwungen bei der Insulinwirkung auf

[1]) Versuch 7, 8, 10, angestellt mit 0,1 Proz. Glucosezusatz; Versuch 11 mit 0,3 Proz. Glucose; Versuch 12 bis 23 mit 0,5 Proz. Glucose.

die Leber in vivo als die Folge einer Zuckerbildung aus sauerstoffärmeren Komplexen (Fetten) ansprechen.

C. Versuche an Hunden.

Versuch 25 (Journal III).

Der Hund wird bei voller Ernährung getötet. 10 g Leber aufgeschwemmt zu 100 ccm Ringerlösung, die 0,5 Proz. Glucose, aber kein $NaHCO_3$ enthält.

Je 30 ccm der Suspension werden geschüttelt in einem etwa 300-ccm-Gefäß bei 40° 50 Minuten lang, a) ohne Insulin, b) mit Insulin (10 Einheiten).

Eiweißgehalt der Suspension = 1,55 Proz.

Auf 10 g Leber berechnet:

a) ohne Insulin:

CO_2-Produktion . . . . = 2,25 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 3,41 „
Respirationsquotient . . = 0,68

b) mit Insulin:

CO_2-Produktion . . . . = 1,89 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 2,81 „
Respirationsquotient . . = 0,67

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Milchsäure mg	Anorganisches H_3PO_4 mg
	a) ohne Insulinzusatz		
vorher	630	35	15
nachher . . .	650	64	22
Bilanz	+ 20	+ 29	+ 7
	b) mit Insulinzusatz		
vorher	630	35	15
nachher . . .	765	35	21
Bilanz	+ 135	± 0	+ 6

Versuch 26 (Journal III).

Ein Hund (mit Gallenfistel und Ikterus) wird nach 24stündigem Hunger durch eine intravenöse Insulininjektion (= 20 Einheiten) hypoglykämisch gemacht. Die Leber ist funktionell als erkrankt anzusehen. 10 g Leber werden zu 100 ccm mit Ringerlösung suspendiert, die 0,5 Proz. Glucose, aber kein $NaHCO_3$ enthält.

Je 30 ccm der Suspension werden geschüttelt in etwa 300-ccm-Gefäßen bei 40° C 50 Minuten lang, a) ohne Insulinzusatz, b) mit Insulinzusatz (10 Einheiten).

Eiweißgehalt der Suspension = 1,49 Proz.

Auf 10 g Leber berechnet:

a) ohne Insulinzusatz:

CO_2-Produktion . . . . = 1,688 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 3,40 „
Respirationsquotient . . = 0,51

b) mit Insulinzusatz:

CO_2-Produktion . . . . = 1,77 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 3,42 ,,
Respirationsquotient . . = 0,52

Für 10 g Leber berechnet:

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Milchsäure mg	Anorganisches H_3PO_4 mg
	a) *ohne* Insulinzusatz		
vorher	565	27	14
nachher . . .	640	30	14
Bilanz	+ 75	+ 3	± 0
	b) mit Insulinzusatz		
vorher	565	27	14
nachher . . .	625	30	15
Bilanz	+ 60	+ 3	+ 1

Versuch 3 (Journal III).

Pankreasdiabetischer Hund, im Hunger. Operation vor 7 Tagen. Zuckerausscheidung stark, getötet durch Carotisentblutung.

10 g Leber zu 100 ccm Ringerlösung, die 0,1 Proz. Glucose enthält.

30 ccm der Suspension werden in einem etwa 300-ccm-Gefäß bei 40° C 50 Minuten lang geschüttelt.

Eiweiß der Suspension = 1,23 Proz.

Für 10 g Leber berechnet:

CO_2-Produktion . . . . = 0,95 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 1,30 ,,
Respirationsquotient . . = 0,73

Für 10 g Leber berechnet:

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Anorganisches H_3PO_4 mg	Milchsäure mg
sofort	210	40	38
nachher . . .	100	30	32
Bilanz	— 110	— 10	— 6

Es müssen, aus den negativen Werten einerseits und den hohen Zuckerausschüttungswerten, Milchsäure und anorganischen H_3PO_4-Werten zu schließen, starke intermediäre Vorgänge eine Rolle spielen, wobei die Atmung nur insoweit in Frage kommt als eine gewisse O_2-Menge zur intermediären Zuckerbildung herangezogen werden dürfte.

Versuch 17.

Pankreasdiabetischer Hund. Pankreasexstirpation 7 Tage vor dem Tode. Zuckerausscheidung pro Tag etwa 30 bis 40 g bei schlechter Nahrungsaufnahme. Tod durch Entbluten.

10 g Leber zu 100 ccm Ringerlösung, die 0,5 Proz. Glucose (ohne $NaHCO_3$) enthält.

Je 30 ccm der Suspension werden in 300-ccm-Gefäßen bei 40° C 50 Minuten lang geschüttelt, a) *ohne* Insulinzusatz, b) mit Insulinzusatz (10 Einheiten).

Eiweißgehalt der Suspension = 1,23 Proz.

Auf 10 g Leber berechnet:

a) *ohne* Insulinzusatz:

CO_2-Produktion . . . . = 0,965 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 1,083 „
Respirationsquotient . . = 0,79

b) mit Insulinzusatz:

CO_2-Produktion . . . . = 1,152 ccm
O_2-Verbrauch . . . . . = 1,35 „
Respirationsquotient . . = 0,858

Für 10 g Leber berechnet:

	Zuckergehalt, berechnet auf Glucose mg	Anorganisches H_3PO_4 mg	Milchsäure mg
	a) ohne Insulinzusatz		
vorher	420	47	20
nachher . . .	427	37	20
Bilanz	+ 7	— 10	± 0
	b) mit Insulinzusatz		
vorher	420	47	20
nachher . . .	392	27	12
Bilanz	— 28	— 20	— 8

Eine Zuckerausscheidung in der Leber ist nur im geringen Grade erweislich (ohne Insulin + 7 mg). Auffällig sind die starken negativen anorganischen H_3PO_4-Werte, was auf intermediäre Bildung anorganischer Kohlenhydratphosphorsäurekomplexe hinweist.

Fassen wir das Ergebnis an unseren Hundeversuchen zusammen, so erscheint uns als das wichtigste folgendes: Der respiratorische Quotient in der Hundeleber beträgt nicht 1, sondern liegt zwischen 0,51 bis 0,68. Bei der pankreasdiabetischen Leber liegt er höher, 0,73 bis 0,79.

Auffällig niedrig ist bei der pankreasdiabetischen Leber der O_2-Verbrauch gegenüber der normalen Leber (pro Gramm Eiweiß berechnet in den normalen Versuchen 2,2, bei der pankreasdiabetischen Leber 1,0).

Soweit man nach dem Ergebnis eines Versuches zu schließen das Recht hat, steigert das Insulin den O_2-Verbrauch in vitro bei der pankreasdiabetischen Leber, aber nicht annähernd etwa auf normale Werte!

Die pankreasdiabetische Leber stellt also gerade das extreme Gegenstück zur in vitro insulingespeicherten normalen bzw. Hundeleber vor. Die intermediären Kohlenhydratverhältnisse weisen auf starken Umbau hin, wobei der anorganischen H_3PO_4 als intermediärer Phosphorsäure-Kohlenhydratkomplex eine wichtige Rolle zufallen muß.

Über die Spaltung von Seidenfibroinpepton durch Takadiastase.

Von

J. Hatano.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 8. August 1924.)

Bekanntermaßen enthält die Takadiastase nicht nur Fermente, die auf Verbindungen der Kohlenhydratreihe sowie auf verschiedene Ester eingestellt sind, sondern auch proteolytische Enzyme und eine Aminoacidase[1]), die Hippursäure und homologe Benzoyl-aminosäuren angreift. Meines Wissens ist bisher nicht geprüft worden, ob auch Peptone einfachen Baues von dem genannten Material zerlegt werden können; ich wählte für die Untersuchung dieser Frage das *Seidenfibroinpepton.* Dieses Material ist für solche Untersuchungen deshalb besonders geeignet, weil bei seiner Spaltung reichliche Mengen Tyrosin entstehen, das sich ohne weiteres in kristallinischer Form abscheidet und in Substanz zur Wägung gebracht werden kann.

Es hat sich ergeben, daß tatsächlich die Takadiastase eine beträchtliche peptolytische Kraft besitzt.

a) 2 g Seidenpepton, 20 ccm Wasser, 2 g Takadiastase und 0,5 ccm Toluol.

Diese Mischung wurde bei 37° im Thermostaten aufbewahrt. Nach 24 Stunden waren schon Tyrosinkristalle ausgefallen. Nach 3 Tagen wurde das Gemisch über Nacht in den Eisschrank gestellt. Nach dem Absaugen wurde zuerst mit eiskaltem Wasser, dann mit Alkohol nachgespült und die Kristallmasse im Vakuumexsikkator getrocknet. Es wurden 0,160 g = 8,00 Proz. Tyrosin erhalten.

b) 5 g Seidenpepton, 50 ccm Wasser, 5 g Takadiastase, sowie 1 ccm Toluol.

---

[1]) *C. Neuberg* und *K. Linhardt*, diese Zeitschr. **147**, 372, 1924; *C. Hoppert*, ebendaselbst **149**, 510, 1924.

Diese Mischung wurde ebenso behandelt.

Nach 2 Tagen waren 0,428 g Tyrosin = 8,56 Proz. des Peptons und nach 5 Tagen waren 0,543 g Tyrosin = 10,86 Proz. des Peptons abgespalten.

p_H war zu Beginn des Versuchs 6,5, zum Schluß 6,4.

Mein Seidenfibroinpepton lieferte rund 12 Proz. Tyrosin bei vollkommener chemischer Hydrolyse; daraus kann man entnehmen, daß in den Fermentversuchen eine Spaltung von 90 Proz. erreicht wurde; dabei ist das ausgeschiedene Tyrosin als rein angenommen, was ohne großen Fehler als zulässig erscheint.

Berichtigung.

(*Julius Holló:* Zur Theorie der Ca-Ionisation in der Blutflüssigkeit.)

In dieser Zeitschr. **150**, 500, 1924 soll es heißen:

$$\text{statt } \frac{Ca_3^{\cdot\cdot}(HPO_4'')_2}{H^{\cdot 2}} = K$$

$$\frac{(Ca^{\cdot\cdot})^3(HPO_4'')^2}{(H^{\cdot})^2} = K.$$

Über die Gesetze der Reduktionskraft organischer Verbindungen in alkalischer Lösung und die quantitative Bestimmung des Zuckers durch Stufenanalyse auch bei kolloidalem Ausscheiden des Cu_2O.

Von

Hermann Ruoss (Stuttgart).

(Eingegangen am 8. August 1924.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Zahlreiche organische Verbindungen, z. B. Dextrose, Lactose, Maltose, Tannin, Gallussäure, Pyrogallussäure, Kreatinin, Kreatin, Harnsäure, Glykuronsäure und dergleichen reduzieren gewisse Farbstoffe und Metallsalze in alkalischer Lösung. Die große Zahl dieser Farbstoffe zerfällt in solche, welche bei der Reduktion dauernd entfärbt werden, wie z. B. die vielen Azofarbstoffe und Nitrofarbstoffe, und in solche, bei denen nach der Entfärbung die ursprüngliche Farbe an der Luft wiederkehrt, wie Indigo und die basischen Farbstoffe: Fuchsin, Safranin, Methylenblau, Malachitgrün usw.

Bekannt ist in dieser Hinsicht die Indigoküpe der Färberei: 1 Teil Indigo + 1 Teil Traubenzucker + 1½ Teile NaOH, mit der man lösliches Indigoweiß erhält, das an der Luft in Indigoblau übergeht. Zu den Metallsalzen, die reduziert werden, gehören die des Au, Ag, Cu, Hg, Bi. Die bekannteste Reduktion ist die der alkalischen Kupferlösung durch Dextrose, auf der die *Fehling*sche Zuckerbestimmung beruht.

Untersuchungen über den Einfluß der Alkaleszenz stellte Fehling nicht an, für den NaOH-Gehalt gibt er[1]) *den großen Spielraum 52 bis 62 g NaOH im Liter an. Es kommt ihm dabei lediglich darauf an, eine alkalische Kupferlösung mit 34,639 g Kupfervitriol im Liter herzustellen, die nach Verdünnen 1 Vol. = 5 Vol. beim Kochen sich nicht zersetzt. Für diese Lösung gilt für ihn das stöchiometrische Gesetz: 1 ccm Kupferlösung zeigt 5 mg Dextrose an.*

Erst Soxhlet hat in seinen Untersuchungen über das Verhalten der Zuckerarten zu alkalischen Kupfer- und Quecksilberlösungen nachgewiesen, daß von einem stöchiometrischen Gesetz keine Rede sein kann, daß vielmehr 1 ccm Lösung bei 1 Proz. Zuckergehalt 4,752 mg Dextrose, dagegen bei 0,5 Proz. Zuckergehalt 4,785 mg Dextrose anzeigt.

Zur Aufstellung des Gesetzes der Reduktion gelangt Soxhlet aber nicht, da er weder die Alkaleszenz noch andere Prozente als 1 und 0,5 Proz. seinen Rechnungen zugrunde legt.

---

[1]) *Fehling*, Ann. d. Chem. u. Pharm. 72, 106, 1858.

Die *Fehling*sche Lösung ist:

34,639 g $CuSO_4$. 5 aq + 173 g Seignettesalz + 51,226 g NaOH[1] im Liter.

Man mischt zu ihrer Herstellung, kurz vor dem Verbrauch, gleiche Volumen von Lösung:

I. 69,278 g $CuSO_4$. 5 aq im Liter und

II. 346 g Seignettesalz + 102,45 g NaOH im Liter.

Wir bezeichnen 1 ccm dieser Mischung kurz mit 1 Fehling.

Beim *Fehling*schen und *Soxhlet*schen Verfahren ist die zu untersuchende Zuckerflüssigkeit auf annähernd 1 Proz. Zucker zu bringen. Beim *Fehling*schen Verfahren nimmt man 10 ccm Fehling + 40 ccm Wasser und setzt der kochenden Mischung von der Zuckerlösung so viel zu, bis vollständige Reduktion des Cuprisalzes eintritt, sind z. B. hierzu 5,15 ccm Zuckerflüssigkeit erforderlich, so ist der Zuckergehalt $\frac{5}{5,15}$ = 0,971 Proz. Beim *Soxhlet*schen Verfahren setzt man zu 100 ccm Fehling, unverdünnt, von der Zuckerlösung zu bis zur vollständigen Reduktion; sind z. B. hierzu 51,55 ccm erforderlich, so ist der Zuckergehalt $\frac{4,752}{4,155}$ = 0,922 Proz. Im ersten Falle geben 5,1 ccm Zuckerlösung nach dem Kochen noch Cupriionen; 5,2 ccm aber keine[2]).

Die genau erforderlichen Kubikzentimeter Zucker liegen also irgendwo zwischen 5,1 und 5,2; die Angabe 5,15 ist also möglicherweise mit einem Fehler ± 0,05 behaftet, ihm entspricht ein Fehler von ± 0,01 in den Zuckerprozenten, analog ist im zweiten Falle möglicherweise ein Fehler von ± 0,001 in den Prozenten vorhanden. Beim Fehlingverfahren kann also in den Hundertsteln der Prozente ein Fehler von 1 vorkommen, beim Soxhletverfahren in den Tausendsteln. (Verwendet man beim

---

[1]) 173 = 5.34,639. Für den NaOH-Gehalt nimmt *Soxhlet* im Journ. f. prakt. Chem., NF., 21, 229, Seignette: NaOH = 173 : 51,6; S. 296 aber 173 : 50. Wir nehmen 51,226 g NaOH, dadurch wird nämlich die Alkaleszenz gleich 1 (s. später), und die Rechnungen werden einfacher.

[2]) Die Cupriionen werden erkannt:

1. durch die *blaue* Farbe *neben* dem roten Niederschlag von Cu_2O; oder schärfer

2. durch die *blaue* Farbe, welche das von Cu_2O befreite Filtrat liefert, oder noch schärfer

3. durch die *Rotfärbung*, welche Ferrocyankalium im angesäuerten Filtrat erzeugt.

Die *Bang*sche und *Pavy*sche Zuckerbestimmung gehören, was Schärfe anlangt, zu Nr. 2. Da *Fehling* seine Lösung verdünnt, 1 Vol. = 5 Vol., verwendet, *Soxhlet* diese aber unverdünnt, so ist die Genauigkeit, die *Fehling mit* Ferrocyankalium erreicht, weit geringer als die einer *Soxhlet*schen Bestimmung *mit* Ferrocyankalium!

letzten Verfahren statt 100 ccm nur 30, wie gewöhnlich, so kann in den Tausendsteln ein Fehler von 3 vorkommen.)

Die Analysen von *Soxhlet*[1]) sind:

50 ccm 1 proz. Zuckerlösung zersetzt durch

105,2 ccm	Fehling		
103,7 „	„	+ 103,7 ccm	aq
102,4 „	„	+ 204,8 „	„
101,5 „	„	+ 304,5 „	„
101,1 „	„	+ 404,4 „	„

100 ccm ½ proz. Zuckerlösung zersetzt durch

104,5 ccm	Fehling	
101,0 „	„	+ 404,0 ccm aq.

Auf 100 ccm Fehling bezogen, geben sie:

1. 100 ccm Fehling zersetzt durch 47,53 ccm 1 proz. Zuckerlösung,
2. 100 ccm Fehling + 100 ccm Wasser zersetzt durch 48,22 ccm 1 proz. Zuckerlösung,
3. 100 ccm Fehling + 200 ccm Wasser zersetzt durch 48,83 ccm 1 proz. Zuckerlösung,
4. 100 ccm Fehling + 300 ccm Wasser zersetzt durch 49,26 ccm 1 proz. Zuckerlösung,
5. 100 ccm Fehling + 400 ccm Wasser zersetzt durch 49,46 ccm 1 proz. Zuckerlösung,
6. 100 ccm Fehling zersetzt durch 95,69 ccm ½ proz. Zuckerlösung,
7. 100 ccm Fehling + 400 ccm Wasser zersetzt durch 99,01 ccm ½ proz. Zuckerlösung.

Die direkten Kontrollanalysen von *Soxhlet* sind:

1. 100 ccm Fehling zersetzt durch 47,5 ccm 1 proz. Zuckerlösung,
2. 100 ccm Fehling + 100 ccm Wasser zersetzt durch 48,25 ccm 1 proz. Zuckerlösung usw.

Wie man sieht, beziehen sie sich nur auf 1- und ½ proz. Zuckerlösungen, ich werde aber zeigen, daß sich auch andere Prozente denselben entnehmen lassen.

Die Analyse 1. gibt: 100 Fehling zersetzt durch 47,53 ccm 1 proz. Zuckerlösung, also durch 475,3 mg Dextrose (beiläufig bemerkt: Beobachtungsfehler $\pm$ 0,5 mg); Analyse 1. gibt hierfür 475 mg (Beobachtungsfehler $\pm$ 0,5 mg).

Analyse 2. gibt: 100 Fehling + 100 ccm Wasser zersetzt durch 48,25 ccm 1 proz. Zuckerlösung, also durch 482,5 mg Dextrose. Da nun 100 ccm Wasser + 48,25 ccm 1 proz. Zuckerlösung gleich sind mit 148,25 ccm einer $\frac{48,25}{148,25} = 0,3254$ proz. Zuckerlösung, so hat man

[1]) *Soxhlet*, Journ. f. prakt. Chem., N.F., 21, 227—317, 1880.

100 ccm Fehling zersetzt durch 148,25 ccm einer 0,3254proz. Zuckerlösung mit 482,5 mg Dextrose. Analyse 2 gibt hierfür 0,3254 Proz. und 482,2 mg Zucker usw.

Man erhält so für *100 ccm Fehling:*

p, Proz. Zucker, gemessen	1 Proz.	0,5	0,3254	0,1962	0,1410	0,1100	0,0992
z, ccm Zuckerlösung, gemessen	47,5 ccm	95,70	148,2	248,80	349,20	449,40	499,0
$10\,pz$, mg Dextrose, ber.	475 mg	478,5	482,5	488,0	492,0	494,1	495,0
$\frac{10^4}{10\,pz}$, ccm Fehling, ber.	21,05 ccm	20,90	20,76	20,49	20,33	20,24	20,20
n, Alkaleszenz, berechnet	0,678 n	0,511	0,403	0,287	0,223	0,182	0,167

Die Berechnung der Alkaleszenz geschah folgendermaßen:

Von den 51,226 g NaOH, die im Liter Fehlinglösung enthalten sind, sind 11,126 g NaOH zur Bildung von $Cu(OH)_2$ aus 34,639 g $CuSO_4$ 5 aq erforderlich. Der Überschuß 40,1 g NaOH bedingt die Alkaleszenz, ohne Überschuß wäre Reduktion ausgeschlossen. Die Fehlinglösung hat also die Alkaleszenz $N = 1$ n.

Nach den Tabellen über NaOH von *Lunge* geben 100 ccm Normalnatronlauge + 100 ccm aq eine Kontraktion von 0,09 ccm und 100 ccm Normalnatronlauge + 600 ccm aq eine Kontraktion von 0,2 ccm. Die Kontraktion kann also bei der Berechnung der Alkaleszenz im Vergleich zu dem großen, durch Verdünnung erhaltenen Volumen, außer acht bleiben. 100 ccm Fehling + z ccm Zuckerlösung hat also die Alkaleszenz $n = \frac{100\,N}{100 + z}$ normal, hier also $n = \frac{100}{100 + z}$. Nach dieser Gleichung wurden die n der Tabelle berechnet.

$10\,pz$ ist der Anzahl der Milligramme Dextrose, welche 100 ccm Fehling reduzieren; $\frac{10^4}{10\,pz}$ die Anzahl der Kubikzentimeter Fehling, welche von 10 mg Dextrose reduziert werden, oder, $10\,pz$ ist ein Maß der Oxydation von 100 ccm Fehling; $\frac{10^4}{10\,pz}$ ccm Fehling ein Maß der Reduktion von 100 mg Dextrose.

Spalte 2 der Tabelle sagt also aus: Zur Zersetzung von 100 ccm Fehling sind von einer 0,5proz. Zuckerlösung 95,7 ccm erforderlich, dabei besitzt die Mischung beider die Alkaleszenz 0,511 normal und 478,5 mg Dextrose, so daß 100 mg Dextrose 20,9 ccm Fehling zersetzen. Die Grundlage aller folgenden Berechnungen bildet nun der Zusammenhang zwischen z und $10\,pz$: man erkennt ihn zunächst am deutlichsten durch folgende graphische Darstellung, bei der die geringen Unterschiede in den $10\,pz$ deutlich zutage treten.

Abszisse $x = {}^1/_{10}\,z$	4,8	9,6	14,8	24,9	34,9	44,9	49,9 mm
Ordinate $y = 2\,(10\,pz - 470)$	10	17,0	25	36	44	48,2	50 mm

Verbindet man diese sieben Punkte, so erhält man einen Parabelbogen k, auf dem sich die sieben Punkte *ziemlich gleichmäßig* verteilen und der siebente Punkt nahe dem Scheitel ist. k auf Pauspapier übertragen, läßt erkennen, daß k sich *vollständig deckt* mit der Parabel $y = 0{,}016\,x^2$ mm, die kleinen Unterschiede sind nicht mehr graphisch zu erkennen.

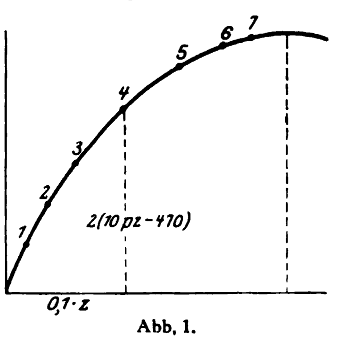


Abb. 1.

Die Parabelgleichung kann nach dieser Aufzeichnung nur sein

$$10\,pz = A + Bz + Cz^2.$$

Nun wird $1000\,p = \frac{1000}{z}\frac{A}{10} + 100\,B + z.100\,C$, so daß man für A, B, C die sieben Gleichungen erhält:

$$\left.\begin{array}{rl}
1000 & = 21{,}053\,\frac{A}{10} + 100\,B + \;\;47{,}5\,.\,100\,C,\\
500 & = 10{,}449\,\frac{A}{10} + 100\,B + \;\;95{,}7\,.\,100\,C,\\
325{,}4 & = \;\;6{,}748\,\frac{A}{10} + 100\,B + 148{,}2\,.\,100\,C,\\
196{,}2 & = \;\;4{,}019\,\frac{A}{10} + 100\,B + 248{,}8\,.\,100\,C,\\
141{,}0 & = \;\;2{,}864\,\frac{A}{10} + 100\,B + 349{,}2\,.\,100\,C,\\
110{,}0 & = \;\;2{,}225\,\frac{A}{10} + 100\,B + 449{,}4\,.\,100\,C,\\
99{,}2 & = \;\;2{,}004\,\frac{A}{10} + 100\,B + 449\;\;\;.\,100\,C,
\end{array}\right\}$$

woraus nach der Methode der kleinsten Quadrate

$$\frac{A}{10} = 47{,}1004;\quad 100\,B = 8{,}706;\quad 100\,C = -0{,}0077 \quad \text{und somit}$$

$$p = \frac{47{,}1004}{z} + 87{,}06\,.\,10^{-4} - 77\,.\,10^{-7}\,z.$$

Hiernach hat man

$p_{gem.}$	1	0,5	0,3254	0,1962	0,1410	0,1100	0,0992	Proz.
$p_{ber.}$	0,99993	0,50013	0,32540	0,19609	0,14091	0,11005	0,09925	Proz.
Fehler	−0,00007	+0,00013	+0,00000	−0,00011	−0,00009	+0,00005	+0,00005	

Die über alles Erwarten günstige Übereinstimmung, die weit unter den oben berechneten möglichen Beobachtungsfehlern liegt, beweist einerseits, daß die *Soxhlet*schen Analysen mit der denkbar größten Genauigkeit ausgeführt wurden, andererseits auch, daß wir es mit einem *wirklich chemischen* Gesetz zu tun haben. Dieses liefert:

100 ccm Fehling.

z	47,5	52,8	59,5	68,0	79,6	95,7	120,7	161,0	243,8	495,2	ccm Zuckerlösung
p	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	Proz. Zucker

Verwendet man nicht 100 ccm Fehling, sondern f ccm und werden diese durch z ccm Zuckerlösung reduziert, so ist der Zuckergehalt:

$$p = 47{,}1 \frac{f}{100\,z} + 0{,}0087 - 0{,}000\,0077 \frac{100\,z}{f}.$$

Da in der Praxis $f = 30$ ccm und alsdann nach früherem mit einem Titrierfehler von drei Einheiten in der dritten Dezimale zu rechnen ist, so kann man für die Praxis setzen

$$p = 47{,}1 \frac{f}{100\,z} + 0{,}0087. \tag{1}$$

Während man bisher bei der maßanalytischen Zuckerbestimmung mit alkalischer Kupferlösung die Zuckerlösung auf annähernd 1 Proz. zu bringen hatte, fällt dies nunmehr weg, man kann z. B. bei etwa 0,3 Proz. ohne vorheriges Einengen der Zuckerlösung die Bestimmung durchführen.

Nun hat man

$$10\,pz = 471 + 0{,}087\,z - 0{,}000077 z^2 \text{ mg Dextrose.}$$

Das Einführen der Alkaleszenz durch $z = 100/n\,(1 - n)$ ergibt die Alkaleszenzgleichung

$$10\,pz = 461{,}528 + \frac{10{,}246}{n} - \frac{0{,}77}{n^2}, \tag{2}$$

d. h. bringt man 100 ccm Fehling durch Wasserzusatz auf die Alkaleszenz n normal und setzt $\left(461{,}5 + \frac{10{,}2}{n} - \frac{0{,}77}{n^2}\right)$ mg Dextrose zu, so findet beim Kochen vollständige Zersetzung statt, oder aber: **3,4639 g $CuSO_4 \cdot 5\,aq$ mit Wasser, Seignettesalz und NaOH auf die Alkaleszenz n gebracht, werden zersetzt durch $\left(461{,}5 + \frac{10{,}2}{n} - \frac{0{,}77}{n^2}\right)$ mg Dextrose.**

Die Kochzeit soll während der Reduktion nach *Soxhlet* 2 bis 6 Minuten betragen können. Nun gibt 1 Vol. Fehling + 20 Vol. Wasser, ohne Zuckerzusatz, schon nach 2 Minuten Kochzeit reichliche Ausscheidung von braunem $Cu(OH)_2$, ebenso 1 Vol. Fehling + 10 Vol. Wasser (am Boden schwarzes CuO). Die Grenze der zulässigen Verdünnung, ohne Selbstzersetzung beim Kochen, ist etwa 1 Vol. Fehling = 7 Vol.; z kann also höchstens 600 ccm betragen, d. h. n darf nicht kleiner als 0,14 sein. Hieraus:

1. z kann nur zwischen 0 und 600 ccm liegen; n zwischen 1 und 0,14 und damit p zwischen ∞ und 0,083 Proz. (Über die Bestimmung von Prozenten unter 0,083 Proz. siehe am Schluß.)

2. Von $p = \infty$ bis 0,083 Proz. ist 471 mg die kleinste Dextrosemenge, welche 100 ccm Fehling reduzieren, sie ist diejenige, welche man zu 100 Fehling *ohne Wasserzusatz* setzen muß, um vollständige Reduktion zu erhalten, die größte Dextrosemenge ist dagegen 499 mg.

3. Vom $p = \infty$ bis $p = 0{,}083$ Proz. reduzieren 100 mg Dextrose 21,2 ccm bis 20,2 ccm Fehling.

4. Würde in der Parabelgleichung $10\,pz = A + Bz + Cz^2$ $B = C = 0$ werden, also $10\,pz = A$, so ginge die Parabel in eine Gerade parallel der Abszissenachse über; die Zersetzung würde nach stöchiometrischem Gesetz erfolgen. Würde nur $C = 0$, also $10\,pz = A + Bz$, so ginge die Parabel über in eine Gerade, die nicht parallel der Abszissenachse ist, und die Abweichung vom stöchiometrischen Gesetz wäre um so größer, je größer A ist.

Für Maltose erhält man $10\,pz = 783 - 0{,}054\,z - 0{,}000076\,z^2$, wo z von 0 bis 600 geht.

100 mg Maltose reduzieren demnach zwischen 12,78 und 15,31 Fehling.

Die Reduktion nimmt hier (von $z = 0$ bis $z = 600$) — entgegen den anderen Zuckerarten — zu mit abnehmender Alkaleszenz, was auch die Analysen von *Soxhlet*[1]) bestätigen.

Wie verhält sich nun eine Fehlinglösung mit 51 g NaOH im Liter gegenüber einer mit 61 g im Liter?

Die alkalische Kupferlösung: 34,639 g $CuSO_4$, 5 aq + 173 Seignettesalz + 61 g NaOH im Liter hat die Alkaleszenz $N = 1{,}25$ normal. Fügt man zu 100 ccm derselben z ccm Zuckerlösung, so erhält man die Alkaleszenz $n = \frac{100\,N}{100 + z}$; findet jetzt Zersetzung statt, so werden bei der Alkaleszenz n 3,464 g $CuSO_4$, 5 aq reduziert, also sind nach dem Alkaleszenzgesetz $10\,pz = 461{,}5 + \frac{10{,}2}{n} - \frac{0{,}77}{n^2}$ mg Dextrose vorhanden, setzt man den vorigen Wert von n ein, so kommt allgemein

$$p = \left(46{,}15 + \frac{1{,}025}{N} - \frac{0{,}077}{N^2}\right)\frac{1}{z} + \left(\frac{102{,}5}{N} - \frac{15{,}4}{N^2}\right)10^{-4} - \frac{77{,}10^{-7}}{N^2}\,z;$$

hiernach hat man

NaOH im Liter	N	$z = 50$ ccm	$z = 500$ ccm
51 g	1	$p = 0{,}9470$	$p = 0{,}0994$
61 g	1,25	$p = 0{,}9455$	$p = 0{,}0986$

Der große Spielraum, den Fehling in den Annalen gestattet, bringt also höchstens bei der Bestimmung von 1 bis 0,1 Proz. Zucker eine Änderung von 1 in den Tausendsteln; er ist also durchaus gestattet. Für

[1]) l. c., S. 285.

eine alkalische Kupferlösung mit 101 g NaOH im Liter, also mit der Alkaleszenz 2,25 normal erhält man:

$$p = 46{,}59 \frac{1}{z} + 42{,}5 \,.\, 10^{-4} - 15{,}2 \,.\, 10^{-7} z, \qquad (3)$$

dies gibt

z	50	500 ccm
p	0,9360	0,0967

Die Abweichungen in p, gegenüber der Fehlinglösung von der Alkaleszenz 1, betragen also höchstens 1 in den Hundertsteln.

Bestimmung des Zuckers mit Stufenanalyse.

Durch Stufenanalyse mittels zweier Dreigläserproben und einer Vierglässerprobe kann man, ohne Bürette und weit einfacher als sonst, den Zucker sehr genau bestimmen.

Man hat zunächst:

Zuckerlösung, ccm	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	5	5	5	5	5
Fehling, ccm . . .	5	4,5	4	3,5	3	5	4	3	2	1
Zuckerproz., roh .	(1)	(0,9)	(0,8)	(0,7)	(0,6)	(0,5)	(0,4)	(0,3)	(0,2)	(0,1)

Erste Dreigläserprobe.

In drei Reagenzgläschen von 10 bis 12 mm lichtem Durchmesser und etwa 12 cm Länge bringt man mittels zweier Meßpipetten, die von 0 bis 5 cm gehen,

2,5 ccm Zucker + 5 ccm Fehling (entsprechend roh 1 Proz.),
2,5 „ „ + 3 „ „ („ „ 0,6 „),
5 „ „ + 2 „ „ („ „ 0,2 „).

Alle drei Gläser bringt man (nach dem Mischen des Inhalts) **gleichzeitig** 2 bis 3 Minuten ins kochende Wasserbad und untersucht hernach die Gläserinhalte auf Cupriionen. Findet man im ersten Glase Cupriionen, im zweiten aber nicht[1]), so folgt die

zweite Dreigläserprobe.

Zucker, ccm	2,5	2,5	2,5
Fehling, ccm	4,5	4	3,5

Die drei Gläser kommen wieder **gleichzeitig** ins Wasserbad. Finden sich im zweiten Cupriionen, im dritten aber nicht, so folgt die

Viergläserprobe.

Zucker, ccm . . .	2,5	2,5	2,5	2,5
Fehling, ccm . . .	3,9	3,8	3,7	3,6

[1]) Findet man im ersten Glas keine Cupriionen, so ist mehr als 1 Proz. Zucker vorhanden und man hat die Zuckerlösung zu verdünnen, etwa 1 Vol. = 5 Vol.

Die vier Gläser kommen **gleichzeitig** ins Wasserbad. Finden sich im dritten Glase Cupriionen, im vierten aber nicht, so hat man Reduktion bei 2,5 ccm Zucker und 3,65 ccm Fehling, dies gibt

$$p = 47{,}1 \cdot \frac{3{,}65}{250} + 0{,}0087 = 0{,}70 \text{ Proz.}$$

Bei 0,6 Proz. auf 0,5 Proz. würde man schreiben

Zucker, ccm . . .	2,5	2,5
Fehling, ccm . . .	3,0	2,5

und hätte die Viergläserprobe

Zucker, ccm . . .	2,5	2,5	2,5	2,5
Fehling, ccm . . .	2,9	2,8	2,7	2,6

Die Stufenanalyse ist mit der alkalischen *Glycerinkupferlösung*

A. 3,464 g $CuSO_4$ 5 aq + 15 ccm Glycerin + 10 g NaOH in 100 ccm

auszuführen. Zu ihrer Herstellung löst man die 3,464 g in etwa 30 ccm Wasser durch Kochen, setzt nach dem **vollständigen** Erkalten die 15 ccm zu und verdünnt dann mit offizineller Natronlauge (*D* 1,17) auf 100.

Diese Kupferlösung hat vor der *Fehling*schen die Vorzüge:

1. sie ist *unbegrenzt haltbar* und viel stärker blau (obgleich sie nicht mehr Cu enthält);

2. die Reduktion mit ihr schließt *auch im Wasserbade* scharf ab, der Abschluß kann mit Ferrocyankalium festgestellt werden.

Andere Glycerinkupferlösungen (z. B. die von *Löwe*, *Haine*, *Criswell*) erleiden Selbstzersetzung bei Bestimmung von Prozenten bis herab auf 0,1 Proz. Die Fehlinglösung ist nicht haltbar — *Soxhlet* verlangt sogar jedesmalige frische Herstellung der Seignettelösung II vor dem Gebrauch —, sie hat außerdem den großen Nachteil, daß mit ihr die Reduktion im kochenden Wasserbade **nicht** scharf abschließt.

Werden f ccm der obigen Glycerinkupferlösung durch z ccm Zuckerlösung reduziert, so hat man nach dem Alkaleszenzgesetz:

$$p = \left(46{,}6 \frac{f}{100\,z} + 0{,}0043\right) \text{Proz. Zucker.}$$

Eine 1proz. Zuckerlösung von Traubenzucker puriss., wasserfrei, *Merck*, ergab mit der Glycerinkupferlösung 0,995 Proz. Zucker, so daß die Anwendung des Alkaleszenzgesetzes, obgleich statt Seignettesalz Glycerin vorhanden ist, gerechtfertigt erscheint; übrigens gaben die Formeln (1) und (3), wie schon oben bemerkt, für p nahezu gleiche Prozente.

Titer einer alkalischen Kupferlösung.

Soxhlet empfiehlt, den Titer mit 1proz. reiner Dextroselösung zu bestimmen, da im vorliegenden Falle statt 1 Proz. 0,995 Proz. gefunden wurden, so hat man, dem richtigen Titer entsprechend, mit

$$p = \frac{1}{0{,}995}\left(46{,}6 \cdot \frac{f}{100\,z} + 0{,}0043\right) \text{Proz. zu rechnen.}$$

Für das Wasserbad kann man ein Becherglas oder eine Blechbüchse benutzen, man legt auf dieselbe ein Zigarrenbrettchen, in das man vier Löcher zum Hängen der Gläser sägt. Über jedes Glas schiebt man einen Gummiring, etwa 3 mm breit, den man von einem Schlauch abschneidet. (Bringt man seitlich, etwa in der Mitte der Büchse, eine Öffnung an und verbindet sie mittels eines nicht zu engen Schlauches mit einer *Mariotte*schen Flasche, so erhält man ein Bad mit gleichbleibendem, beliebig hoch zu stellendem Wasserstand.)

Das Filtrieren des im kochenden Wasserbade erhaltenen Cu_2O bildete anfangs große Schwierigkeiten. Ich konnte kein Filterpapier finden — auch doppelt und dreifach genommen —, das Cu_2O vollständig zurückgehalten hätte. Man erhält zwar oft klare Filtrate, die aber bei dunklem Hintergrunde rötlich sind von Spuren von Cu_2O. Nach mancherlei Versuchen ergab sich, daß gewöhnliches Filterpapier vollständig undurchlässig für Cu_2O wird durch einen dünnen Überzug von *Kieselgur* oder *Talk*, und daß Spuren von Cuprisalz beim Durchgang durch den Überzug sich noch als Spuren im Filtrat finden, ferner, daß der Überzug die Schnelligkeit des Filtrierens nicht beeinträchtigt.

Ich nehme 200 ccm gewöhnliches Wasser, bringe etwa ½ g Talk hinzu, mache mit NaOH schwach alkalisch und schüttle. Man erhält so eine milchig weiße Flüssigkeit; von ihr nimmt man etwa 10 ccm und schüttet sie als Ganzes (am besten kochend heiß) auf das Filter von 5 cm Radius. Die Flüssigkeit läuft schnell durch, und das Filter ist jetzt undurchlässig für Cu_2O.

Nimmt man ein Glas aus dem kochenden Wasserbade und gießt sofort seinen Inhalt als Ganzes aufs Filter (dessen Filtrat man in eines der kleinen Gläser auffängt), so erhält man ein völlig klares Filtrat, das man schon, ehe alles abgelaufen ist, auf Kupfer untersucht. Bei *vertikaler axialer Durchsicht* hat man dann eine klare Flüssigkeit von 5 (bis 10) ccm Dicke vor sich, die noch Spuren von Kupfer an der blauen Farbe erkennen läßt. Fügt man 20 Tropfen Eisessig und 1 Tropfen Ferrocyankalium zum Filtrat, so erhält man den schärfsten Nachweis des Kupfers im Filtrat. Die Zuckerbestimmung schließt ab mit zwei Proben, von denen die eine gelblich (später durch Zersetzung des Ferrocyankaliums grün) ist, während die andere rosa bis braunrot ist.

Über die Genauigkeit der Stufenanalyse.

Ob man z. B. 100 ccm Fehling + 47 ccm Zucker erhitzt, filtriert und 10 ccm des Filtrats auf Cupriionen untersucht, oder ob man nur 10 ccm der Mischung erhitzt, filtriert, und auf Cupriionen untersucht, ist ohne Einfluß auf die Genauigkeit; wichtig allein ist, daß die Mischung von Zucker- und Fehlinglösung genau im vorgeschriebenen Verhältnis erfolgt. Um bei kleinen Quantitäten hier eine große Genauigkeit zu erzielen, benutze ich für die Zuckerlösung eine Vollpipette für 2,5 ccm; ferner für die alkalische Kupferlösung eine Meßpipette mit etwa 6 mm lichtem Durchmesser, vom untersten Teilstrich bis zum obersten 5 ccm enthaltend. Die Entfernung beider Teilstriche ist so etwa 20 cm und wird in 100 gleiche Teile geteilt, so daß 0; 0,05; 0,10; 0,15; 0,2, ..., 5 cm

mit der Meßpipette noch scharf entnommen werden können (Abstand zweier Teilstriche 2 mm). Man hat für das Einstellen auf

1	Proz. zu nehmen	2,5 ccm	Zucker	+ 5 . 1	= 5	ccm Kupferlösung	A
0,99	„ „ „	2,5 „	„	+ 5 . 0,99	= 4,95	„ „	A
0,98	„ „ „	2,5 „	„	+ 5 . 0,98	= 4,50	„ „	A
		⋮		⋮	⋮		⋮
0,80	„ „ „	2,5 „	„	+ 5 . 0,80	= 4	„ „	A
		⋮		⋮			⋮
0,10	„ „ „	2,5 „	„	+ 5 . 0,10	= 0,5	„ „	A

Schreibt man oben, bei 5 ccm, an die Meßpipette 1 Proz. und abwärts bei 4,5 ccm, 4 ccm, 3,5 ccm usw. bzw. 0,9 Proz., 0,8 Proz., 0,7 Proz. usw., so gibt die Pipette, bis auf die Hundertstel der Prozente, die für 2,5 ccm Zuckerlösung notwendigen Kupfermengen an, und die Stufenanalyse gibt auf ± 0,005 genau die Prozente (statt 1 Proz. kann man erhalten 1,005 bis 0,9905), während *Soxhlet* S. 298 anführt, daß seine Bestimmung, mit 50 ccm Fehling, die Prozente auf ± 0,002 angebe (statt 1 Proz. 1,002 bis 0,998).

Von den Proben sind selbstverständlich nur die zu filtrieren, welche, nach dem Herausbringen aus dem Wasserbade, nicht blau erscheinen, also im allgemeinen nur drei bis vier.

Für das auf 0,8 Proz. einzustellende Glas hat man z. B. danach zu nehmen: 2,5 ccm Zucker + Kupfermengen für 0,8 Proz. von Lösung *A*.

Findet man am Schluß, daß die 2,5 ccm Zucker f ccm Kupferlösung reduzieren, so war $\left(46{,}6\frac{f}{250}+0{,}0043\right)$ Proz. Zucker vorhanden oder noch einfacher: gibt die Meßpipette am Schluß vermöge ihrer Skala p Proz., so war $\left(93{,}2\frac{p}{100}+0{,}0043\right)$ Proz. Zucker vorhanden.

Die Meßpipette mit Prozentangabe liefert Dr. *Karl Goercki*, Hannover, Klagesmarkt, Preis etwa 1 Mark; eine Vollpipette für 2,5 ccm wohl auch.

Bei 0,1 Proz. kann man auch die doppelte Quantität ins Wasserbad bringen, also zweimal 2,5 ccm Zucker plus zweimal der Kupferlösung für 0,1 Proz.

Kontrastfarbe bei der Stufenanalyse.

Wir nennen Kontrastfarbe diejenige, welche sich bei Änderung des chemischen Gleichgewichts einstellt. Hat man z. B. in einem Glase 2,5 ccm Zucker + 3,5 ccm Fehling im Gleichgewicht, so ist die Flüssigkeit nach dem Kochen farblos; hat man dann im folgenden Glase 2,5 ccm dieser Zuckerlösung und 4 ccm Fehling, so ist die Flüssigkeit blau. Dieses Blau ist die Kontrastfarbe für den Übergang von der einen Probe zur anderen, sie ist identisch mit 0,5 ccm Fehling verdünnt mit Wasser auf 6,5 ccm oder 1 Vol. Fehling verdünnt auf 13. Dies gibt aber ein gut

wahrnehmbares Blau, mit Essig und Ferrocyankalium intensives Rotbraun auch in den Gläsern von 1 cm Durchmesser.

Hat man allgemein in einem Glase z ccm Zucker + f ccm Fehling im Gleichgewicht, im folgenden z_1 ccm Zucker + f_1 ccm Fehling, so ist die Kontrastfarbe $f_1 - f \cdot \frac{z_1}{z}$ ccm *Fehling*, verdünnt mit Wasser auf $z_1 + f_1$ ccm, d. h. 1 Vol. *Fehling* verdünnt auf $\frac{(z_1 + f_1) z}{z f_1 - f z_1}$ Vol.

Ist die Kontrastfarbe sehr schwach, so lassen sich die zwei Proben nicht mehr auseinanderhalten, und es hat keinen Sinn, sie anzustellen.

Für die mit der eben beschriebenen Meßpipette erreichte *schwächste* Kontrastfarbe erhält man 0,05 ccm von A, verdünnt auf 7,5 oder 1 Vol. A (oder Fehling), verdünnt auf 150 Vol. Bringt man hiervon 10 ccm in eines der Gläser und setzt 10 Tropfen Eisessig + 1 Tropfen Ferrocyankalium zu, so erhält man ein kräftiges Rot, was die Zuverlässigkeit der Stufenanalyse am besten bestätigt. Bei den folgenden Reduktionen von Farbstoffen durch Dextrose in alkalischer Lösung setzt man der Farbstofflösung so lange Dextrose zu, bis die Farbe verschwindet. Diese Methode steht also etwa auf derselben Stufe wie eine *Fehling*sche Zuckerbestimmung, bei der man ohne Zuhilfenahme von Ferrocyankalium titriert bis zum Verschwinden der blauen Farbe; also auch auf der Stufe der *Bang*schen Zuckerbestimmung mit alkalischer Kupferlösung und Hydroxylamin.

Die Kontrastfarbe spielt bei den Farbstoffen eine ganz bedeutende Rolle.

Beim gewöhnlichen Titrieren, etwa mit Phenolphthalein als Indikator, handelt es sich um die Kontrastfarbe bei Änderung des chemischen Gleichgewichtes durch einen Bürettentropfen.

Die Stärke der Kontrastfarbe ist ein Maß für den scharfen Abschluß der Titration.

Kolloidales Cu_2O.

Wird das Cu_2O kolloidal ausgeschieden — wie z. B. beim Harnzucker —, so findet man im Filtrat immer Cupriionen; das Filtrieren ist also dann wertlos. In diesem Falle benutze man die von mir[1]) angeführte Eigenschaft des Cu_2O. Das Cu_2O ist löslich in NaCl + Essigsäure und diese Lösung gibt mit KCyS weißes in Essigsäure unlösliches CuCyS. Die alkalische Glycerinkupferlösung ist hier

B. 3,464 g $CuSO_4$ 5 aq + 15 ccm Glycerin + 10 g NaOH + 2 g KCyS in 100 ccm.

Man löst die 3,464 in etwa 30 ccm Wasser durch Kochen, setzt nach dem *vollständigen* Erkalten die 15 ccm Glycerin zu, dann 50 ccm offizinelle NaOH (D 1,17); hernach 2 g KCyS und verdünnt mit der Natronlauge auf 100.

---

[1]) *Ruoss*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **101**, 133, 1918.

Diese Lösung kann jederzeit auch die Lösung *A* ersetzen.

Von der, kolloidale Ausscheidung bewirkenden Zuckerlösung bringt man ungefähr 50 ccm in einen Kolben von etwa 100 ccm und fügt etwa 10 g NaCl zu. Man schüttelt ½ Minute. Enthält das NaCl keine Bollen, so löst es sich in dieser kurzen Zeit *vollständig* auf. Die üblichen Verunreinigungen des NaCl erzeugen eine *belanglose* Trübung.

Findet man später, daß die NaCl-haltige Zuckerlösung p Proz. Zucker hat, so hat die ursprüngliche Zuckerlösung $p + \frac{7}{100} p$ Proz. Zucker (d. h. Zuschlag $\frac{7}{100}$ von der Zahl der gefundenen Prozente).

Nach den Tabellen von *Gerlach* geben nämlich 100 ccm Wasser + 20,77 g NaCl 107 ccm Flüssigkeit.

Essigsäure *E*. Ungefähr 50 ccm Wasser werden mit 10 g NaCl (wie vorhin) geschüttelt. 1 Vol. hiervon, mit etwa 1 Vol. Eisessig gemischt, gibt die Essigsäure *E*, sie kann zur Not auch durch Eisessig allein ersetzt werden.

Hat man jetzt die Dreigläserprobe:

Zucker, ccm	2,5	2,5	2,5
Alkalische Kupferlösung, ccm . .	5	3	2

so gießt man von jedem Glase nach dem Mischen so viel weg, daß *nach Augenmaß* ein Volumen von 3 bis 4 ccm Flüssigkeit zurückbleibt.

Man bringt jetzt die drei Gläser *gleichzeitig* zwei oder mehr Minuten ins kochende Bad, nimmt nun das erste Glas aus dem Bade, setzt zur heißen Flüssigkeit desselben nach *Augenmaß* ½ Volumen (also 1,5 bis 2 ccm) der Essigsäure *E* zu (vor dem Essigsäurezusatz kann man eine Halterklammer an die nach Augenmaß geschätzte Stelle bringen).

Nun schwenkt man um, indem man das Glas vertikal hält und rasch in horizontalen Kreisen dreht.

Jetzt bringt man das Glas zurück ins Bad; ebenso verfährt man beim zweiten und dritten Glase. Die Gläser bleiben im Bade bis alles Cu_2O verschwunden und ein weißer Niederschlag entstanden ist. Dies dauert im allgemeinen 0 bis 2 Minuten. Während dieser Zeit nimmt man vorübergehend die Gläser zwei bis dreimal aus dem Bade und schwenkt sie um.

Nun werden die Gläser endgültig aus dem Bade genommen und etwas abgekühlt. Man erhält jetzt mit 1 Tropfen Ferrocyankalium und Umschwenken einen Farbenumschlag von Weiß in Braunrot, wenn Cupriionen vorhanden waren; ein blasses Rosa ist ein Zeichen, daß nur Spuren von Cuprisalz anwesend waren. Die Zuckerbestimmung schließt ab mit zwei Proben, von denen die eine nach Zusatz von Ferrocyankalium *weiß*, die andere *rosa* bis *braunrot* ist.

Die Bestimmung des Zuckers bei kolloidaler Ausscheidung kann demnach *ohne Filtration* vollzogen werden. Will man aber die Farbenänderung durch Ferrocyankalium rein beobachten, so gießt man die heiße Flüssigkeit mit dem weißen Niederschlage auf ein kleines Filter und setzt, ehe alles abgelaufen, 1 Tropfen Ferrocyankalium zum Filtrat, das vorher nicht ganz klar zu sein braucht.

Bemerkungen.

1. Das Verfahren kann selbstverständlich auch bei nicht kolloidaler Ausscheidung, also bei reinen Zuckerlösungen angewendet werden und bietet dann den Vorteil, daß das Filtrieren wegfallen kann.

2. Man kann auch mit der NaCl-freien Zuckerlösung arbeiten und fügt dann zu jeder Probe gleich nach dem Essigsäurezusatz so reichlich festes NaCl, daß die untere Kuppe des Glases noch etwa zur Hälfte mit festem NaCl bedeckt ist (dabei darf auch NaCl an den Glaswänden hängen bleiben). Man schwenkt um, bringt die Probe zurück ins Bad usw. wie oben.

3. Die *weiße Probe* zeigt häufig nach einiger Zeit einen Stich ins Grüne, der von teilweiser Zersetzung des Ferrocyankaliums herrührt, nicht aber von Cupriionen. Dieser Stich ist eher ein Zeichen von der Abwesenheit dieser Ionen, denn auch erneuter Zusatz von Ferrocyankalium gibt keine Rotfärbung; *maßgebend ist eben die weiße oder rote Farbe gleich oder kurze Zeit nach dem Ferrocyankaliumzusatz.*

4. Je geringer der Zuckergehalt, desto rascher erfolgt die Lösung des Cu_2O in Essigsäure; bei 0,1 Proz. Zucker erfolgt die Lösung meist sofort.

5. Bei **Harnzuckerbestimmungen** ist im allgemeinen *gar kein Zusatz von NaCl* erforderlich, das kolloidale Cu_2O löst sich ohne weiteres in Essigsäure; wird je ein solcher Zusatz erforderlich, so macht man ihn mit festem NaCl; in der Regel wird man sich hier auch mit der Bestimmung auf Zehntelprozente begnügen, so daß die Viergläserprobe wegfällt.

Schon die *erste Dreigläserprobe reicht vollständig hin, um den Harn in physiologischer Beziehung zu deuten,* man stellt sie an, indem man die drei Gläser

Urin, ccm	2,5	2,5	5
Lösung *A*, ccm . . .	5	3	2
Proz., roh	1	0,6	0,2

gleichzeitig 1 Minute (dies genügt vollständig) ins Bad bringt und hernach mit 30 Tropfen Eisessig oder besser noch mit 30 Tropfen Essigsäure *E* versetzt und umschwenkt.

Gibt das dritte Glas nach Ferrocyankaliumzusatz keinen Farbenumschlag in Rotbraun, so enthält der Urin mehr als 0,2 Proz. Zucker (besser gesagt, sein Reduktionsvermögen beträgt mehr als das von 0,2 Proz. Zucker), er ist dann *diabetisch*; gibt das zweite Glas keinen Farbenumschlag, so enthält er mehr als 0,6 Proz.; gibt das dritte Glas keinen Farbenumschlag, so enthält er mehr als 1 Proz.

Wie sich die Stufenanalyse mit Tropfengläsern noch einfacher bestimmen läßt (auch ohne Bad), soll in einem späteren Aufsatz angegeben werden.

Bestimmung des Zuckers 0,01 bis 0,1 Proz.

Solche Bestimmungen waren bis jetzt mit Fehlinglösung nicht auszuführen, da diese Lösung hierbei Selbstzersetzung erleidet. Die

Selbstzersetzung läßt sich aber vermeiden durch NaOH-Zusatz, also durch Erhöhen der Alkaleszenz. So geben 50 Vol. aq + 1 Vol. Fehling[1]) nach dem Kochen braunes $Cu(OH)_2$, 50 Vol. aq + 1 Vol. Fehling + 4 Vol. alkalischer Seignettelösung II aber kein $Cu(OH)_2$. Die Erhöhung der Alkaleszenz geschieht am einfachsten durch Zusatz der alkalischen Seignettelösung oder der alkalischen Glycerinlösung

G) 30 g Glycerin + 20 g NaOH in 100 ccm zur Kupferlösung

K) 6,928 g $CuSO_4$, 5 aq in 100 ccm.

Wir betrachten nun die Mischung

$$10 \text{ ccm Zuckerlösung } + a \text{ ccm } G + b \text{ ccm } K.$$

Diese enthält 200 a mg NaOH, von denen 22,25 b mg zur Bildung von $Cu(OH)_2$ erforderlich sind, so daß die Mischung die Alkalesezenz

$$n = \frac{200\,a - 22{,}25\,b}{40\,(10 + a + b)}$$

besitzt. Diese Mischung ist aber qualitativ identisch mit (Multiplikation der gemischten Teile mit $50/b$)

$$\frac{500}{b} \text{ ccm Zucker} + \frac{50\,a}{b} \text{ ccm } G + 50 \text{ ccm } K,$$

diese Mischung enthält aber 3,464 g $CuSO_4$, 5 aq; werden diese nun zersetzt, so sind nach dem Alkaleszenzgesetz

$$\left(461{,}5 + \frac{10{,}2}{n} - \frac{0{,}77}{n^2}\right) \text{ mg Dextrose}$$

in den $\frac{500}{b}$ ccm Zuckerlösung, was $2\left(461{,}5 + \frac{10{,}2}{n} - \frac{0{,}77}{n^2}\right) 10^{-4} . b$ Prozent Dextrose ergibt.

Dies liefert, wenn man $a = 1$ und der Reihe nach $b = 1$, 0,9, 0,8, ..., 0,1 ccm setzt:

1.	10 ccm Zucker	+ 1 ccm G	+ 1 ccm K	$p = 0{,}1$	(0,097)
2.	10 „ „	+ 1 „ G	+ 0,9 „ K	$p = 0{,}09$	(0,087)
3.	10 „ „	+ 1 „ G	+ 0,8 „ K	$p = 0{,}08$	(0,078)
	⋮		⋮		⋮
10.	10 „ „	+ 1 „ G	+ 0,1 „ K	$p = 0{,}01$	(0,0097)

Die Bestimmung von 0,01 bis 0,1 Proz. kann also mit zwei Dreigläserproben ausgeführt werden.

Erste Dreigläserprobe.

10 ccm Zucker	+ 1 ccm G	+ 1 ccm K	(entspricht	0,1 Proz.),
10 „ „	+ 1 „ G	+ 0,6 „ K	(„	0,06 „),
10 „ „	+ 1 „ G	+ 0,2 „ K	(„	0,02 „).

[1]) Diese Mischung käme bei 0,01 Proz. Zucker in Frage.

Sind nach dem Einbringen ins Bad im ersten Glase Cupriionen, im zweiten aber nicht vorhanden, so folgt

Zweite Dreigläserprobe.

10 ccm Zucker + 1 ccm *G* + 0,9 ccm bzw. 0,8, 0,7 ccm ***K***.

Sind im ersten Glase Cupriionen vorhanden, im zweiten nicht, so ist der Zuckergehalt 0,085 Proz.

Die 0,1, 0,2, ..., 1 ccm ***K*** entnimmt man mit einer Meßpipette, bei der 0,1 ccm noch einer Rohrlänge von etwa 1 cm entspricht; statt 1 ccm *G* kann man auch 20 Tropfen *G* hinzufügen. Der Nachweis des Kupfers im Filtrat durch Ansäuern und Ferrocyankalium ist auch hier *ungemein* scharf.

Anwendung auf die Bestimmung der *Eigenreduktion* eines Harns. Reduziert ein zuckerfreier oder durch Gärung zuckerfrei gemachter Harn die Kupferlösung ebenso stark wie eine 0,2proz. Zuckerlösung, so nennt man 0,2 Proz. seine Eigenreduktion, sie rührt von Harnsäure, Kreatinin usw. her. Auf Grund zahlreicher von mir gemachter Bestimmungen beträgt die Eigenreduktion, mit der obigen Kupferlösung gemessen, im Maximum 0,2 Proz. und das größte spezifische Gewicht eines zuckerfreien Harns 1,035. Zur Ermittlung der Eigenreduktion läßt man etwa 50 ccm Urin mit 5 g Preßhefe 1 Stunde lang im Wasserbade von 34 bis 37^0 vergären. Diese Zeit genügt sogar bei 1 Proz. Zuckergehalt zum Vergären[1]); man filtriert dann und bestimmt im Filtrat die Eigenreduktion mit der Lösung ***B***; werden f ccm ***B*** durch z ccm des Filtrats reduziert, so ist die Eigenreduktion $f/2z$ Proz.

Um Wasserbäder auf konstanter Temperatur zu halten, pflegt man die kleine Flamme zu regulieren, ich halte es aber zweckmäßiger und sicherer, wenn man einen Blechstreifen unter den Boden des Wassergefäßes bringt, der den Boden etwas überragt, und nun die Flamme, etwa die kleine Sparflamme des Bunsenbrenners, längs des Streifens unterhalb verschiebt, eventuell über den Boden hinaus.

Zur Erhöhung der Alkaleszenz (und zum Niederschlagen der Phosphate) setzt man einfach NaOH (Dichte 1,17) zu und benutzt dann nicht die Kupferlösung ***K***, sondern die alkalische Lösung ***B***.

Beispiel: 1 ccm ***B*** + 5 ccm zuckerfrei gemachter Urin + 10 Tropfen NaOH wurden 1 Minute ins Bad gebracht, dann mit 30 Tropfen der Essigsäure ***E*** angesäuert und nun mit 1 Tropfen Ferrocyankalium versetzt, es trat „braunrote Färbung" ein.

1 ccm ***B*** + 6 ccm Urin + 10 Tropfen NaOH 1 Minute ins Bad gebracht, angesäuert, heiß filtriert, das Filtrat mit Ferrocyankalium versetzt, gab keine Farbenänderung, also Eigenreduktion zwischen 0,10 und 0,09 d. h. 0,095 Proz.

---

[1]) *Victorow*, Pflügers Arch. 118, 583, 1907; ***Ruoss***, Zeitschr. f. physiol. Chem. **101**, 142, 1918.

Das Filtrieren bei 6 ccm Urin geschah, um mit größter Sicherheit das Ausbleiben einer Farbenänderung festzustellen. (Das Zusetzen einer Messerspitze Talk nach dem Ansäuern ergibt auch ein *völlig* klares Filtrat.)

Man wird bei der Bestimmung der Eigenreduktion immer mit 1 ccm $B + 5$ ccm beginnen und dann um ganze Kubikzentimeter vorwärts oder rückwärts schreiten.

Die Eigenreduktion läßt sich auch — ohne Gärung und ohne chemische Analyse — aus dem spezifischen Gewicht des Urins berechnen. Um letzteres auf 15^0 zu beziehen, hat man pro Grad 0,000 25 zu addieren bzw. zu subtrahieren.

Die Berechnung fußt auf folgendem:

1. Erfahrungsgemäß zeigt beispielsweise ein zuckerfreier Urin vom spezifischen Gewicht 1,024 und der Eigenreduktion e, nach dem Verdünnen 1 Vol. = 2 Vol., das spezifische Gewicht 1,012 und die Eigenreduktion $e/2$, und beim Verdünnen 1 Vol. = 4 Vol., das spezifische Gewicht 1,006 und die Eigenreduktion $e/4$. Im letzten Falle ist in 100 ccm auch nur noch ein Viertel der Harnsäure, des Kreatins usw. vorhanden; hieraus folgt z. B.: Ein zuckerfreier Urin vom spezifischen Gewicht 1,033 und der Eigenreduktion 0,18 Proz. muß nach dem Verdünnen auf das spezifische Gewicht 1,010 die Eigenreduktion $0{,}18 \cdot \frac{10}{33} = 0{,}055$ Proz. zeigen; einer vom spezifischen Gewicht 1,012 und der Eigenreduktion 0,03 Proz. muß nach dem Verdünnen auf das spezifische Gewicht 1,010 die Eigenreduktion $0{,}03 \cdot \frac{10}{12} = 0{,}025$ Proz. ergeben, einer vom spezifischen Gewicht 1,008 und der Eigenreduktion 0,03 Proz. muß nach dem Einengen auf das spezifische Gewicht 1,010 die Eigenreduktion $0{,}03 \cdot \frac{10}{8} = 0{,}038$ Proz. besitzen.

Zahlreiche Analysen gaben so: Jeder zuckerfreie Urin, auf das spezifische Gewicht 1,010 gebracht, zeigt eine Eigenreduktion, die schwankt zwischen 0,056 und 0,025 Proz., die also im Mittel 0,04 Proz. ist. Bei einem zuckerfreien Urin vom spezifischen Gewicht $1 + x$ ist also, *unverdünnt*, mit einer Eigenreduktion von

$$e = 4 . x \text{ Proz.} \qquad \text{(I)}$$

zu rechnen.

2. Erfahrungsgemäß zeigt jeder zuckerfreie Urin, mit Dextrose in fester Form versetzt, bei Zunahme von je 1 Proz. Dextrose, eine Zunahme von 0,0038 im spezifischen Gewicht (konstant bis 10 Proz. Dextrose).

Ein zuckerfreier Urin vom spezifischen Gewicht $1 + x$, mit y Proz. Dextrose versetzt, hat demnach das spezifische Gewicht

$$s = (1 + x) + 0{,}0038\,y. \qquad \text{(II)}$$

Erhält man jetzt mit der Kupferlösung p Proz. Zucker, so ist

$$p = 4\,x + y. \qquad \text{(III)}$$

Aus I, II und III x und y eliminiert, gibt:

Eigenreduktion $4\,(s - 1 - 0{,}0038\,p)$ Proz.

Beispiel. $s = 1{,}020$, mit der Kupferlösung wurde gefunden $p = 0{,}40$ Proz. Die Rechnung gibt jetzt: Eigenreduktion 0,07 Proz. und damit tatsächlicher Zuckergehalt 0,33 Proz.

Reduktion der Farbstoffe.

Jene Farbstoffe, bei denen nach der Reduktion die ursprüngliche Farbe wiederkehrt, müssen vor Luftzutritt[1]) geschützt werden und eignen sich daher weniger gut zur Untersuchung als die Farbstoffe mit bleibender Veränderung. Ich untersuchte daher Lösungen letzter Art, und zwar Orange II (Sulfanilsäure azo-β-Naphtol) und Echtrot C, sie zeigten eine beträchtlich größere Abnahme der Reduktion mit Abnahme der Alkaleszenz im Vergleich zur Reduktion der Metallsalze und dementsprechend *ganz enorme* Abweichungen vom stöchiometrischen Gesetz. Innerhalb ganz *enger Grenzen* kann dessenungeachtet selbstverständlich Proportionalität vorkommen, wie ja auch die alkalische Kupferlösung 1 Vol. Fehling = 5 Vol. solche für 1 Proz. bis 0,5 Proz. nahezu aufweist.

Echtrot C 0,3 g + 100 g NaOH im Liter.

Mit Vollpipetten wurden dieser Lösung 10, 4, 2, 1 ccm entnommen, in Reagenzgläser mit etwa 1 cm Durchmesser gebracht, mit abgemessenen Mengen Zuckerlösung versetzt und 5 Minuten ins kochende Wasserbad gehängt. Die Entfärbung war am schärfsten nachzuweisen bei *axialer*, (vertikaler) Durchsicht durch die Gläser. Nach der Entfärbung stellt sich leichtes Strohgelb ein (will man sich von ihm frei machen, so säure man mit konzentrierter HCl an).

Zur Untersuchung kamen Dextroselösungen von 1, 0,5, 0,2, 0,15, 0,1 Proz. Gehalt; ihnen wurden mit einer Meßpipette die Flüssigkeit entnommen. Diese Pipette hatte die Teilung 0, 0,1, 0,2, ..., 1 ccm; 0,1 ccm entsprach einer Rohrlänge von 1 cm, so daß auf 0,05 ccm *scharf entnommen* werden konnte.

Im folgenden bezeichnen wir den 20. Teil eines Kubikzentimeters kurz mit **Tropfen,** wobei es sich **aber nicht um eigentliche Tropfen** handelt, sondern immer **genau** um je 0,05 ccm. Unter 15 bzw. 200 Tropfen sind also ganz genau 0,75 ccm bzw. genau 10 ccm zu verstehen.

[1]) Die kleinsten Erschütterungen der Gläser im kochenden Bade können hier Farbenumschlag erzeugen, da sich der entfärbte Stoff meist an der Oberfläche sammelt, dort oxydiert wird und nun gefärbt zu Boden sinkt.

Die Stufenanalysen — Viergläserproben — waren

Nr. 1. 1 proz. Zuckerlösung.

Rot, Tropfen	200	200	200	200
Zucker, Tropfen . . .	14	15	16	17

Nachdem die vier Gläser gleichzeitig 5 Minuten im Bade waren, wurden sie herausgenommen und auf Entfärbung geprüft. Im ersten Glas war noch schwaches Rot vorhanden, im zweiten nicht; daher Entfärbung 200 Rot und 14,5 Zucker, d. h. 100 Rot + 7,3 Zucker 1 proz.

Die Kontrastfarbe war also 1 ccm Rot verdünnt mit Wasser auf $\frac{214}{200} \cdot 15 = 16$ ccm, ein kräftiges Rot.

Nr. 2. 0.5 proz. Zuckerlösung.

Rot, Tropfen	80	80	80	80
Zucker, Tropfen . . .	12	13	14	15

Entfärbung von 12 auf 13; also 100 Rot + 15,6 Zucker 0,5 proz. Kontrastfarbe 1 ccm Rot = 15 ccm (Schärfe also wie vorhin).

Nr. 3. 0,2 proz. Zuckerlösung.

Rot, Tropfen	40	40	40	40
Zucker, Tropfen . . .	16	17	18	19

Entfärbung von 18 auf 19, d. h. 100 Rot + 46,3 Zucker 0,2 proz. Kontrastfarbe 1 ccm Rot = 24 ccm.

Nr. 4. 0,15 proz. Zuckerlösung.

Rot, Tropfen	20	20	20	20
Zucker, Tropfen . . .	12	13	14	15

Entfärbung 14 auf 15, also 100 Rot + 72,5 Zucker 0,15 proz. Kontrastfarbe 1 ccm Rot = 26 ccm.

Nr. 5. 0,1 proz. Zuckerlösung.

Rot, Tropfen	20	20	20	20
Zucker, Tropfen . . .	24	25	26	27

Entfärbung 25 auf 26, also 100 Rot + 127,5 Zucker 0,1 proz. Kontrastfarbe 1 ccm Rot = 58 ccm.

Diese Kontrastfarbe bildete die Grenze des in den Gläsern noch deutlich wahrnehmbaren Rotes.

Würde man bei Nr. 5 nehmen:

Rot, Tropfen	200	200	200	200 . . .
Zucker, Tropfen . . .	250	251	252	253 . . .

so hätte man von 250 auf 251 die Kontrastfarbe 1 ccm Rot $= \frac{450}{200} \cdot 251 = 562$ ccm, was als Rot nicht wahrnehmbar wäre. Aus denselben Gründen kann man bei Nr. 2, 3, 4 nicht mit 200 Rot arbeiten.

Man hat nun

Rot	100	100	100	100	100
Zucker, z . . .	7,3	15,6	46,3	72,5	127,5
p, Proz.	1	0,5	0,2	0,15	0,1

und nun hat man zu setzen

$$p = \frac{A}{z} + B + Cz.$$

C wird noch viel kleiner als bei der alkalischen Kupferlösung, so daß man sofort schreiben kann

$$p = \frac{A}{z} + B,$$

und nun hat man für A und B die fünf Gleichungen:

$$1 = B + \frac{A}{7,3};\ 0,5 = B + \frac{A}{15,6};\ 0,2 = B + \frac{A}{46,3};\ 0,15 = B + \frac{A}{72.5};$$

$$0,1 = B + \frac{A}{127,5},$$

woraus nach der Methode der kleinsten Quadrate: $A = 6,94$; $B = 0,05$ also

$$p = \frac{6.94}{z} + 0,05$$

und damit

$$10\,p = 19,4 + \frac{125}{n}.$$

Hiernach

z, gemessen . . .	7,3	15,6	46,3	72,5	127,5
p, „ . . .	1	0,5	0,2	0,15	0,1
p, berechnet . . .	1,00	0,20	0,20	0,15	0,10

Werden also r Vol. Rot durch z Vol. Zuckerlösung entfärbt, so ist

$$\left(\frac{6,94}{z}\,\frac{r}{100} + 0,05\right)$$ Proz. Zucker vorhanden.

Für die reduzierende Kraft organischer Verbindungen in alkalischer Lösung dürften also wohl allgemein die zwei Gesetze gelten:

1. Werden 100 ccm einer alkalischen Metallsalzlösung oder einer alkalischen Farbstofflösung durch z ccm der Lösung einer organischen Substanz S reduziert, so enthält die letztere Lösung $\left(\frac{A}{z} + B + Cz\right)$ Prozent von S.

2. Bringt man die 100 ccm durch Verdünnen mit Wasser auf die Alkaleszenz n normal, so werden sie durch

$$D + \frac{E}{n} + \frac{F}{n^2}$$ mg der organischen Substanz S

vollständig reduziert.

Hierbei sind A, B, C, D, E und F konstante Zahlen.

Nachweis des Traubenzuckers im Harn mit alkalischer Kupfer-Glycerinlösung für die Praxis[1].

Von

Hermann Ruoss (Stuttgart).

(Eingegangen am 8. August 1924.)

Der Nachweis des Zuckers im Harn mit **Wismutsalzen** bei den Proben von *Nylander*, *Almen*, *Hammarsten* ist unzuverlässig, da bei mehr als der Hälfte zuckerfreier Urine diese Proben positiv ausfallen[2].

Der Nachweis des Zuckers mit der *Trommer*schen Probe ist ebenfalls unzuverlässig[3], da Fälle bekannt sind, wo sogar bei 0,3 Proz. Zucker die Probe negativ ausfiel.

Der Nachweis des Zuckers mit **Polarisation** kann zu Trugschlüssen führen, da der Harn 0,2 Proz. und mehr Zucker enthalten kann, ohne daß der Polarisationsapparat eine Rechtsdrehung anzeigt[3].

Der Nachweis des Zuckers mit *Gärung* ist ziemlich grob und eignet sich nur für große Zuckermengen[4].

Den empfindlichsten und zuverlässigsten Nachweis für den Zucker im Urin liefert zurzeit die *Worm-Müller*sche Probe im Tyndallphänomen des kolloidalen Kupferoxyduls, das in alkalischer Kupferlösung sich bildet[5].

Die quantitative Bestimmung des Zuckers geschieht häufig mit Gärungssaccharometern. Nach *Hasselbalch*, *Lindhard*, *Pflüger*[6]) geben sie aber ungenaue Resultate, auch hat *Hedin*[7]) nachgewiesen, daß die

---

[1]) Ohne Büretten, ohne Pipetten, ohne Wasserbad, nur mit zwei Tropfengläsern.

[2]) *Pflüger*, Pflügers Arch. **105**, 1904; *Moritz*, Arch. f. klin. Med. **46**, 1890; *Salkowski*, Praktikum 1900, S. 181; *Kistermann*, Arch. f. klin. Med. **50**, 1892.

[3]) *Pflüger*, Pflügers Arch. **105**, 137, 1904; *Worm-Müller*, ebendaselbst 27, 112, 1882.

[4]) *Lindhardt-Hasselbalch*, diese Zeitschr. **27**, 277 u. 286, 1910.

[5]) *Pflüger*, Pflügers Arch. **105**, 126, 1904; *Ruoss*, Zeitschr. f. analyt. Chemie. 58, 193, 1919; *Ruoss*, Zeitschr. f. physiol. Chemie **101**, **195**, 1918.

[6]) *Lindhardt-Hasselbalch*, diese Zeitschr. **27**, 286, 1910; *Pflüger*, Pflügers Arch. **105**, 121–175, 1904.

[7]) *Neubauer Huppers*, Analyse des Harns **1**, 247.

Kohlensäuremenge von der Menge des vorhandenen Harnstoffs abhängt[1]). Eine andere viel angewendete quantitative Bestimmung ist die mit *Fehling*scher Lösung, sie ist in einer für Ärzte geeigneten Form im Reichsmedizinalkalender enthalten und beruht auf der Entfärbung der Fehlinglösung durch den Zucker. Das Erkennen des Endes der Entfärbung ist aber sehr schwer festzustellen.

Lassar-Cohn sagt in seiner Praxis der Harnuntersuchung hierüber: Es ist *außerordentlich* schwer, den Endpunkt der Reaktion im Harn zu erkennen. Mit voller Sicherheit vermögen es eigentlich nur die, welche sich andauernd mit Zuckertitrieren nach dieser Methode beschäftigen.

Durch Hinzufügen von Rhodankalium zur Fehlinglösung ist es mir aber gelungen, diesen Übelstand zu beseitigen.

Neben dem Zucker reduzieren auch andere Urinbestandteile (Kreatinin, Harnsäure, Glykuronsäure, Brenzcatechin usw.) die alkalische Kupferlösung; dazu tritt noch, daß auch der Harn völlig Gesunder zuckerhaltig ist[2]); beides zusammen gibt für den Harn völlig Gesunder im Maximum eine Reduktion, die nahezu der von 0,2 Proz. Zucker gleichkommt. Die Einnahme von Arzneimitteln kann die Reduktion beträchtlich steigern; eine solche Einnahme soll also vorher nicht stattgefunden haben. Ein Harn ist daher **sicher diabetisch**, wenn die Reduktion der Kupferlösung zum mindesten derjenigen einer 0,2proz. Zuckerlösung gleichkommt. Am geeignetsten ist dabei für die Untersuchung des Harns 4 Stunden nach reichlichem Genuß von Kohlehydraten, und es ist für die Praxis am einfachsten, sich quantitativ mit einer geringeren Reduktion als 0,2 Proz. nicht zu befassen.

---

[1]) Da die Flüssigkeit im Saccharometer CO_2 absorbiert, so sollte man erwarten, daß erst bei 0,3 Proz. Zucker gasförmige CO_2 auftritt. Die Hefe zeigt aber Selbstgärung (Glykogengärung). Wasser mit 50 Proz. Hefe – auch mit 10 Proz. – zeigt z. B. freie CO_2 bei Quecksilberabschluß. Die Hefemenge darf also nicht so groß sein, daß durch Selbstgärung gasförmige CO_2 sich ergibt; streng genommen gerade so groß, daß ihre CO_2 die Flüssigkeit genau sättigt. Bei 0 bis 0,3 Proz. Zucker sind aus diesem Grunde die Angaben der Saccharometer unzuverlässig; außerdem aber auch wegen schwierigen Ablesens der Kohlensäuremenge und ihrer Reduktion auf 0° und 76 cm Druck. Bei großem Zuckergehalt ist die Glykogenkohlensäure gering gegenüber der Zuckerkohlensäure, die Angaben werden dann besser.

Das Dr. *Wagner*sche Saccharometer (Glasfabrik Götze, Leipzig) ist nahezu unzerbrechlich und vermeidet Berührung von Quecksilber und Harn. Steckt man die untere Hälfte desselben in einen passenden Blechkasten und verschließt man mit Watte, so läßt sich dieser Saccharometer auch in ein Wasserbad von 37° bringen.

[2]) Nach *Nagasaki*, Hoppe-Seylers Zeitschr. **95**, 1915, im Maximum 0,054 Proz.

Zum Nachweis des Zuckers benutzen wir: 1. Die *haltbare alkalische Kupferlösung.* 3,5 g $CuSO_4$, 5 aq + 15 ccm Glycerin + 10 g NaOH + 2 g KCNS in 100 ccm. Man bringt die 3,5 g in einen 100-ccm-Kolben, fügt 30 ccm Wasser bei und löst durch Erwärmen, sodann läßt man **vollständig abkühlen** und fügt erst dann 15 ccm Glycerin bei und hernach 50 ccm Liquor natrii caust. des Arzneibuches (D. 1,17). Nun gibt man noch 2 g KCyS hinzu und verdünnt mit Liq. natr. caust. vollends auf 100.

2. *Essigsäure.* Zu etwa 50 ccm Wasser bringt man 10 g nicht zusammengebackenes Kochsalz und schüttelt etwa ½ Minute, wodurch sich das Salz löst. Ein beliebiges Volumen hiervon verdünnt man mit Eisessig aufs doppelte Volumen (zur Not kann man auch Eisessig für sich verwenden).

3. *Ferrocyankaliumlösung.*

4. Gewöhnliches *Kochsalz* in fester Form.

5. Etwa 5proz. *Traubenzuckerlösung* mit 2 Tropfen Karbolsäure auf 100 ccm. Diese Lösung ist nicht unumgänglich notwendig.

Die Methode der Zuckerbestimmung ist kurz folgende:

Man setzt zu etwa $f = 20$ Tropfen der Kupferlösung so lange Tropfen Urin zu, bis beim Kochen die *blaue* Kupferlösung verschwunden ist. Sind hierzu u Tropfen Urin erforderlich, so ist $\frac{1}{2} f/u$ Proz. Zucker vorhanden. Das Verschwinden der blauen Farbe erkennt man in roher — *meist sehr unsicherer — Weise* an der Farbe, *äußerst genau* aber durch Ansäuern mit Essigsäure und Zusatz von Ferrocyankalium. Tritt hier ein Farbenumschlag von Weiß in Schokoladebraun ein, so war die blaue Kupferlösung noch nicht ganz verschwunden. Zur Verwendung kommen kleine Reagenzgläser von 1 cm Durchmesser. Der Harn und die Kupferlösung kommen in Normaltropfenzähler, das sind Tropfengläser mit seitlichem Sporn. Jedes solche Tropfenglas liefert bei derselben Flüssigkeit immer gleich große Tropfen. Laufen die Tropfen langsam ab, so befindet sich im Kropf des Ablaufs Luft, ein Übelstand, der durch seitliches Neigen beim Aufsetzen des Glasstopfens beseitigt werden kann. Die Tropfengläser fülle man zur Hälfte.

Das Kochen.

Um ruhiges Kochen zu erreichen, setzt man vor und, nach Bedürfnis, auch während des Kochens Kochsalz in fester Form bei; solches darf auch zum Teil an den Glaswänden hängen bleiben.

Das Ansäuern und Zusetzen von Ferrocyankalium.

Beim Ansäuern setzt man zur heißen Flüssigkeit nach Augenmaß ihr halbes Volumen Essigsäure zu, schwenkt um und kocht eventuell einige Sekunden. Verschwindet das rote Kupferoxydul jetzt nicht sofort — *was sehr selten eintritt* —, so fügt man so reichlich Kochsalz zu, daß die

untere Kuppe des Glases noch zur Hälfte mit festem Salz bedeckt ist und kocht wieder, wodurch das rote Kupferoxydul verschwindet und ein weißer Niederschlag entsteht; nun setzt man abseits vom Feuer 1 Tropfen Ferrocyankalium bei. Entsteht ein Farbenumschlag von Weiß in Braunrot, so war noch blaues Kupfersalz vorhanden; tritt kein Farbenumschlag ein, so traf dies nicht zu. Im letzteren Falle kann sich (durch Zersetzung des Ferrocyankaliums) nach einiger Zeit ein grünlicher Farbenton einstellen, der nichts mit Kupfer zu tun hat. Vor dem Ferrocyankaliumzusatz kann man auch abkühlen.

Es dürfte wohl keine chemische Zuckerbestimmung geben, die mit geringerem Material- und Zeitaufwand durchgeführt werden kann.

A. Qualitativer Zuckernachweis.

Man nimmt zwei der Reagenzgläschen *R* und *L*. In *R* bringt man ein beliebiges Volumen (etwa 2 ccm) Kupferlösung und verdünnt mit gewöhnlichem Wasser nach Augenmaß aufs doppelte. In *L* bringt man nach Augenmaß ein dem jetzigen Volumen gleiches (4 ccm) Volumen Urin. Beiden Gläschen fügt man zum ruhigen Kochen festes Kochsalz bei.

Das für die linke Hand bestimmte Gläschen *L* bringt man in der Flamme zum Kochen und entfernt dann das Gläschen aus der Flamme, hierauf bringt man das für die rechte Hand bestimmte Gläschen *R* über derselben Flamme zum Kochen; nun bringt man beide, *R* und *L*, in die Flamme, so daß sie etwa unter 60^0 zueinander stehen und die Böden beider sich berühren. Nach wenigen Sekunden kochen jetzt beide Flüssigkeiten. Nun bringt man beide aus der Flamme. Nachdem man in mäßigem Tempo auf 30 gezählt hat, gießt man die Kupferlösung in die Urinlösung und läßt ruhig stehen, bis der Phosphatniederschlag sich gesetzt hat, und prüft dann auf **kolloidale Trübung.** Man hält dicht hinter das Glas ein schwarzes Papier. Eine opalisierende staubige, schmutzige, orangefarbige oder gelbgrüne Trübung **über** dem Niederschlag zeigt dann Zucker an. Der Nachweis gelingt noch gut bei 0,02 Proz. Zucker, nach einigen Stunden stellt sich hier noch beträchtliche Trübung ein. Man führe den Nachweis mit 40 Tropfen des Urins einer gesunden Person und sodann mit 40 Tropfen Urin + 1 Tropfen von 5. Eine im durchgehenden Licht rote Flüssigkeit oder rote Flecken im Phosphatniederschlage sind noch kein Zeichen für Zucker. Die staubige Trübung im auffallenden Licht ist allein maßgebend.

B. Nachweis, ob der Urin diabetisch ist.

In ein Gläschen bringt man 20 Tropfen Kupferlösung, sodann 50 Tropfen Urin und Kochsalz. Man kocht etwa 25 Sekunden (Zählen auf 25), säuert mit Essigsäure an und setzt 1 Tropfen Ferrocyankalium zu. Tritt kein Farbenumschlag in Braunrot ein, so ist der Urin diabetisch.

C. Quantitative Zuckerbestimmung.

Man benutzt die Tabelle für 20 Tropfen Kupferlösung:

Urin, Tropfen . .	1	2	5	10	11	13	15	17	20	25	34	50
Zucker, Proz. . .	10	5	2	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2

Man gibt 20 Tropfen Kupferlösung in ein Reagenzgläschen und kocht, setzt dann 1 Tropfen Urin zu und kocht einige Sekunden, verschwindet die blaue Farbe nicht (was man durch Neigen des Glases und Beobachtung der Oberfläche über einem weißen Papier erkennen kann, meist aber auch ohne weiteres), so setzt man einen weiteren Tropfen Urin (zusammen also 2 Tropfen) zu und kocht wieder einige Sekunden, verschwindet die blaue Farbe nicht, so setzt man 3 weitere Tropfen hinzu (zusammen also 5 Tropfen) und kocht, verschwindet die blaue Farbe nicht, so setzt man weitere 5 Tropfen Urin zu (zusammen also 10 Tropfen) usw. Solange die Färbung noch blau oder grün, aber nicht orange oder rot ist, enthält sie als Farbenkomponente noch Blau. Ist bei Zusatz von 1, 2, 5, 10, 11 usw. Tropfen Urin, Blau in der Mischfarbe nicht mehr vorhanden, so sind 10 5, 2, 1, 0,9 Proz. zu verzeichnen. **Ist man an irgend einer Stelle des Zusatzes im unklaren, ob noch Blau zugegen ist, so säuert man mit Essigsäure an und setzt Ferrocyankalium zu, wodurch die Anwesenheit von Blau aufs genaueste durch Farbenumschlag festgestellt wird.**

Zur physiologischen Beurteilung eines Urins genügt die *Dreigläserprobe*: In drei Reagenzgläser bringt man 20 Tropfen Kupferlösung + 50 Tropfen Urin; 20 Tropfen Kupferlösung + 17 Tropfen Urin; 20 Tropfen + 10 Tropfen Urin. Man kocht jede der drei Proben etwa 25 Sekunden lang, säuert mit Essigsäure an und setzt Ferrocyankalium zu, erfolgt im ersten Glase kein Farbenumschlag, so ist der Urin diabetisch, erfolgt im zweiten Glase kein Umschlag, so ist mehr als 0,6 Proz. Zucker vorhanden, erfolgt kein Umschlag im dritten Glase, so ist mehr als 1 Proz. Zucker vorhanden. Man kann die drei Gläser (statt zu Kochen) auch **gleichzeitig** 1 Minute lang (dies genügt vollständig) in ein kochendes Wasserbad bringen (Blechbüchse oder Becherglas), dann Ansäuern und mit Ferrocyankalium versetzen.

Werden allgemein f Volumen Kupferlösung durch u Volumen Urin entfärbt, so ist $\frac{1}{2} f/u$ Proz. Zucker vorhanden, die obige Tabelle läßt sich danach vervollständigen:

$f = 20$ Tropfen.

Urin, Tropfen . .	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Zucker, Proz. . .	10	5	3,3	2,5	2	1,7	1,4	1,3	1,1	1

Wünscht man größere Genauigkeit, so nimmt man f größer als 20 Tropfen und verdünnt auch den Urin, wenn er mehr als 1 Proz. Zucker enthält.

Berücksichtigung der Tropfengröße.

Man gibt 100 Tropfen der Kupferlösung in ein Gläschen und markiert die Oberfläche, man entfernt die Lösung und gibt aus dem Tropfenglas des Urins so viel Tropfen Urin (dafür auch einfacher Wasser), bis die Marke wieder erreicht ist. Sind hierzu 95 Tropfen erforderlich, so hat man mit ½ *f*/*u*. 0,95 Proz. zu rechnen.

Verwendet man statt der beiden Tropfengläser zwei Vollpipetten für je 1 ccm, bei denen 0,1 ccm noch einer Rohrlänge von etwa 1 cm entspricht, so fällt die genannte Berücksichtigung weg. Statt 1, 2, 3 bis 20 Tropfen nimmt man dann 0,05, 0,10, 0,15 bis 1 ccm, wodurch auch bei größerer Tropfenzahl eine raschere Entnahme möglich wird.

Berücksichtigung der Eigenreduktion.

Reduziert ein zuckerfreier oder durch Gärung zuckerfrei gemachter Urin die Kupferlösung ebenso stark wie eine 0,1 proz. Zuckerlösung, so nennt man 0,1 Proz. die Eigenreduktion desselben; sie ist im Maximum 0,2 Proz. Ist s das spezifische Gewicht eines Urins bei 15° und findet man mit der Kupferlösung p Prozent Zucker, so ist seine Eigenreduktion

$$4\,(s - 1 - 0{,}0038\,p)\ \text{Proz.}$$

Zur Reduktion des spezifischen Gewichts auf 15° hat man mit einer Veränderung von 0,000 25 pro Grad zu rechnen.

Beispiel: Ein Urin ergab bei 20° das spezifische Gewicht 1,026 und mit der Kupferlösung 0,30 Proz. Zucker.

Hier ist $s = 1{,}026 + 0{,}00025 . 5 = 1{,}027$; $p = 0{,}3$, also Eigenreduktion 0,104 Proz., wahrer Zuckergehalt $0{,}30 - 0{,}104 = 0{,}20$ Proz.

Saccharase und die zweite Wirkungsart der Wasserstoffionen.

Von

H. P. Barendrecht.

(Aus dem Laboratorium der Niederländischen Preßhefe- und Spiritusfabrik, Delft.)

(Eingegangen am 21. Juni 1924.)

In der Abhandlung über Urease[1]) habe ich gezeigt, daß die Wasserstoffionen die Wirkung dieses Enzyms auf zwei verschiedene Weisen beeinflussen. Erstens ist der Dissoziationszustand eines Enzyms, wenn wir es, wie hier der Fall ist, als Elektrolyt auffassen können, von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig. Aber zweitens wurde durch umfangreiche Experimente die neue Auffassung hervorgebracht und bestätigt, daß das Substrat (hier der Harnstoff) und die Wasserstoffionen die Wirkung, welche von dem Enzym ausgeht, unter sich in konstantem Verhältnis teilen. Es wurde da resumiert:

„Das Enzym Urease wirkt durch eine Strahlung, welche nur von seinem Substrat Harnstoff und von Wasserstoffionen absorbiert wird.

Die mathematische Formulierung dieser Auffassung ist

$$-dx = m\frac{x}{x + nc}dt.$$

Hierin ist x die Konzentration des Harnstoffs zur Zeit t, c die Konzentration und n der Absorptionskoeffizient der Wasserstoffionen, m eine Konstante, proportional der Ureasekonzentration.“

Die damals schon geäußerte Vermutung, daß durch weitere Untersuchungen diese zweite Wirkungsart der Wasserstoffionen sich auch bei anderen Enzymen zeigen würde, hat sich nun bei der Saccharase bestätigt.

Die Saccharasewirkung wird bekanntlich auch bedeutend durch die Umsetzungsprodukte des Substrats, durch Glucose und Lävulose verzögert. Vorläufige Untersuchungen der Umsetzungsgeschwindigkeiten von Rohrzuckerlösungen bei verschiedenem p_H hatten mir schon gezeigt, daß die Wasserstoffionen auch mit verzögern.

Die Strahlungshypothese gibt hier also als Vervollständigung meiner früheren Formel jetzt die folgende theoretische Ableitung der

---

[1]) Rec. des trav. chim. des Pays-Bas. 1, 39, 1920; Proc. K. Akad. Wetensch. Amsterdam 21, 1126, 1919; 21, 1307; 22, 29; 22, 126.

Reaktionskinetik. Sei m der Faktor, welcher nur von der wirksamen Menge des Enzyms in der Volumeinheit der Lösung abhängt, dann wird die Strahlung, womit die ausgeübte Wirkung des Enzyms angenommen wird, sowohl durch Rohrzucker als durch Invertzucker und durch Wasserstoffionen absorbiert.

Nennen wir das Absorptionsvermögen von invertiertem Rohrzucker im Verhältnis zu dem von Rohrzucker selbst n_s, das der Wasserstoffionen n, die Konzentration des Rohrzuckers im Anfang a und nach t Minuten x, die konstant gehaltene Wasserstoffionenkonzentration c, dann ist die Umsetzungsgeschwindigkeit

$$-dx = m \frac{x}{x + nc + n_s(a - x)} dt. \quad (1)$$

Substituieren wir wieder $\frac{a-x}{a} = y$, so wird die Gleichung:

$$dy = m \frac{1 - y}{a + nc + a(n_s - 1)y} dt, \quad (2)$$

welche nach Integration und Übergang auf gewöhnliche Logarithmen gibt:

$$\log \frac{1}{1-y} + \frac{1-n_s}{nc + n_s a} 0{,}4343\, ay = \frac{m}{nc + n_s a} 0{,}4343\, t. \quad (3)$$

Zur Bestimmung von n und n_s würde man die Umsetzungsgeschwindigkeiten z. B. einer 5proz. Rohrzuckerlösung zu messen haben bei einer auch bestimmten Wasserstoffionenkonzentration. Aus der Kombination der Gleichungen, die Formel (3) für zwei verschiedene Zeitpunkte gibt, könnte dann unmittelbar $\frac{1-n_s}{nc + n_s a}$ berechnet werden. Wiederholung dieses Vorganges bei einem anderen p_H würde dann die Berechnung von n und n_s möglich machen.

Nun ist aber nc meistens bedeutend kleiner als $n_s a$; bei kleinem Werte von c ist sogar nc gegen $n_s a$ zu vernachlässigen. Es gilt hier in der Tat, nur Abweichungen zu bestimmen in der früher[1]) aufgestellten Reaktionskurve

$$\log \frac{1}{1-y} + \frac{1-n_s}{n_s} 0{,}4343\, y = \frac{m}{n_s a} 0{,}4343\, t$$

für verschiedene p_H.

Einzelne Invertzuckerbestimmungen, selbst mit der besten gewichtsanalytischen Kupferreduktionsmethode, können nicht mit genügender Genauigkeit ausgeführt werden, um diese immer doch kleinen Verschiedenheiten der Kurve festzustellen. Darum führte ich stets

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 49, 456, 1904.

sechs gleiche Versuche an demselben Tage nebeneinander aus, so daß je das Mittel von sechs Invertzuckerbestimmungen erhalten wurde.

Die Versuchsanordnung war folgende:

Das Enzym wurde in ungefähr gleicher einfacher Weise wie früher bereitet. 500 g Hefe (hiesige Bäckerhefe) wurden mit 2 Liter Wasser und 90 g vorher gewaschenem Kieselgur gemischt und zu einem Kuchen gepreßt, welcher, zerbröckelt auf einem Tisch ausgebreitet, ohne weiteres 2 oder 3 Tage der langsamen Trocknung bei Zimmertemperatur überlassen wurde. Die Mischung war dann ganz gleichmäßig trocken geworden und wurde in einer Porzellankugelmühle in ungefähr 1 Stunde leicht pulverisiert, durch feine Gaze gesiebt und im Dunkeln aufbewahrt.

In einem Meßkölbchen mit eingeschliffenem Stopfen wurden 0,34 g Natriumacetat und 25 ccm Essigsäure von n/10 mit Wasser zu 50 ccm aufgefüllt. Nach Zusatz von 0,5 g des Hefekieselgurpulvers und Durchschüttlung wurde das Kölbchen meistens 1 Stunde in einem Wasserbade von 27° belassen. Filtrierung durch ein gewöhnliches Faltenfilter gab dann ohne Schwierigkeit eine klare Enzymlösung, welche auf diese Weise am selben Tage eines sechsfachen Experiments jedesmal frisch bereitet wurde. In sechs Meßkölbchen wurde so viel Essigsäure und eventuell Natriumacetat gebracht als nötig war, um in allen während des Versuches dasselbe gewünschte p_H zu erhalten. Dann wurden 2,778 g Rohrzucker zugesetzt und zu 50 ccm bei 27° mit der Säure oder mit Wasser aufgefüllt. Nachdem alle Kölbchen im Wasserbade auf die auch in diesen Enzymuntersuchungen von mir immer benutzte und auf 0,05° konstant gehaltene Temperatur von 27° gebracht waren, wurde mit Pipetten (aufbewahrt in einem Luftthermostaten von 27°) aus jedem der sechs Kölbchen 5 ccm entfernt. Dann wurden auch mit auf 27° vorgewärmten Pipetten jedem Kölbchen 5 ccm der Enzymlösung zugesetzt. Die Pipette, mit der Enzymlösung gefüllt, setzte ich in das im Wasserbade hängende Kölbchen und blies den Inhalt desselben in 1 oder 2 Sekunden unten in die Zuckerlösung aus, mit Zwischenschaltung von einem Natronkalkröhrchen, um dem Hereintreten von Kohlensäure aus dem Munde vorzubeugen. Dann wurde die Pipette nochnals schnell durch Einsaugen gefüllt und wieder leergeblasen. Nach Entfernung der Pipette wurde dann das Kölbchen mit seinem eingeschliffenem Stopfen verschlossen, schnell durchgeschüttelt und im Bade belassen. Diese sämtlichen Mischungsoperationen dauerten nur einige Sekunden. Die Zuckerkonzentration war beim Anfang der Enzymwirkung auf diese Weise 5 g in 100 ccm Lösung (der Kürze halber hier wieder 5 Proz. genannt). Um die Zuckerbestimmungen im richtigen Zeitpunkt ausführen zu können, beschickte ich jedesmal auf diese Weise zwei Kölbchen 3 Minuten nacheinander, eine halbe Stunde später die folgenden zwei und nach wieder einer halben Stunde das dritte Paar. Nach 80 und 210 Minuten Einwirkungszeit wurden dann allen Kölbchen mit Pipetten, auch im Luftthermostaten von 27° aufbewahrt, 3 ccm entnommen und diese in die fertiggestellte Erlenmeyerflasche mit *Fehling*scher Lösung durch Ausblasen entleert. Alle Pipetten und Kölbchen waren genau auf Einfüllung bei 27° justiert. Durchspülung durch Einspritzen von Wasser in diese Pipetten nach der Entleerung sicherte also die ganz genaue Entnahme von 3 ccm der zu untersuchenden Lösung. Die Zuckerbestimmungen führte ich hier stets aus nach *Jessen-Hansen*[1]), das *Kjeldahl*-

[1]) *Jessen-Hansen*, C. r. Carlsberg Laboratoriet 4, 193, 1899.

sche Verfahren, wobei aber der Einfluß von Rohrzucker neben Invertzucker mit berücksichtigt ist. Die zur Verwendung kommende Gesamtzuckermenge wurde deshalb stets auf 150 mg gehalten.

Die Wasserstoffionenkonzentration wurde stets elektrometrisch im Luftthermostaten bei 27° gemessen. Es zeigte sich aber, daß Lösungen, welche Lävulose enthalten, nicht scharf elektrometrisch gemessen werden können. Darum bestimmte ich p_H immer in besonderen, den Versuchslösungen genau gleichen Mischungen, in welchen aber der Enzymextrakt zuvor durch kurzes Verweilen in einem heißen Wasserbade inaktiviert worden war. Ich habe kontrolliert, daß durch diese Erhitzung keine Änderung von p_H verursacht wurde.

Die Resultate dieser Versuche sind zuerst in Tabelle I wiedergegeben.

Um Mißverständnissen vorzubeugen, sei hier noch bemerkt, daß sich über die Abhängigkeit der Aktivität *m* von p_H aus dieser Tabelle keine Schlüsse ziehen lassen. Die verwendeten Mengen Hefekieselgur waren in allen sechs Versuchen wohl gleich, aber die Daten der Versuche liefen so weit auseinander, daß die Konzentrationen aktiven Enzyms gar nicht als gleich angesehen werden können.

In der zweiten Kolumne ist die Flüssigkeit oder die Mischung verzeichnet, in welcher der Rohrzucker zu 50 ccm Gesamtvolumen gelöst wurde.

Tabelle I. Saccharasewirkung in 5proz. Rohrzuckerlösung.

Nr.	Rohrzucker gelöst in	p_H	Nach 80 Min.		Nach 210 Min.	
			mg Cu	*y*	mg Cu	*y*
1	50 ccm Essigsäure 0,4 n	2,97	121,4	0,4201	225,4	0,8116
2	50 „ „ 0,25 n	3,15	129,3	0,4489	233,9	0,8451
3	50 „ „ 0,1 n	3,50	143,5	0,5009	246,3	0,8943
4	40 „ „ 0,1 n 0,136 g Na-Acetat . . . } zu 50 ccm	4,15	142,5	0,4971	246,25	0,8939
5	30 ccm Essigsäure 0,1 n 0,272 g Na-Acetat . . . } zu 50 ccm	4,50	132,8	0,4616	239,0	0,8651
6	20 ccm Essigsäure 0,1 n 0,408 g Na-Acetat . . . } zu 50 ccm	4,82	128,7	0,4465	235,7	0,8518

Die Absorptionskoeffizienten n und n_s kann man berechnen aus zwei dieser Versuche. Man findet dann Übereinstimmung zwischen dem damit berechneten und dem direkt gefundenen Werte von $\frac{1 - n_s}{nc + n_s a}$ bei den anderen Versuchen.

Besser ist noch n und n_s aus allen Kombinationen zwischen den vier ersten Versuchen zu berechnen und dann das Mittel aus den auf diese Weise am genauesten ermittelten Werten von n und n_s zu nehmen. Bei den zwei letzten Nummern war die Wasserstoffionenkonzentration zu gering, der Wert von nc neben dem von $n_s a$ also fast verschwindend klein. Diese können deshalb zur Berechnung von n nicht herangezogen werden.

Tabelle II. n und n_s, berechnet aus den Versuchen 1 bis 4.

Aus Versuch	n	n_s
1 und 2	$0{,}73 \times 10^4$	0,471
1 „ 3	$0{,}64 \times 10^4$	0,477
1 „ 4	$0{,}78 \times 10^4$	0,473
2 „ 3	$0{,}70 \times 10^4$	0,480
2 „ 4	$0{,}84 \times 10^4$	0,470
3 „ 4	$0{,}74 \times 10^4$	0,475
Im Mittel	$0{,}74 \times 10^4$	0,474

Mit diesen Werten von n und n_s habe ich $\frac{1 - n_s}{nc + n_s a}$ für die verschiedenen Versuche berechnet und neben den gefundenen Zahlen in Tabelle III zusammengestellt. Die Werte von nc sind mit darin aufgenommen, um ihre relative Größe gegenüber $n_s a$, das ist die Absorption der Wasserstoffionen neben der des Invertzuckers, übersichtlich wiederzugeben.

Es mußte hier natürlich a und c in demselben Maßstabe ausgedrückt werden. Die Wasserstoffionenkonzentration ist hier also nicht wie gewöhnlich in Grammen pro Liter, sondern in Grammen pro 100 ccm angegeben.

Tabelle III.

p_H	c	nc	$n_s a$	$\frac{1 - n_s}{nc + n_s a}$ gefunden	$\frac{1 - n_s}{nc + n_s a}$ berechnet
2,97	$10{,}72 \times 10^{-5}$	0,79	2,37	0,164	0,166
3,15	$7{,}079 \times 10^{-5}$	0,52	2,37	0,181	0,182
3,50	$3{,}162 \times 10^{-5}$	0,233	2,37	0,201	0,202
4,15	$0{,}708 \times 10^{-5}$	0,052	2,37	0,214	0,217
4,50	$0{,}316 \times 10^{-5}$	0,023	2,37	0,218	0,220
4,82	$0{,}151 \times 10^{-5}$	0,011	2,37	0,222	0,221

Aus diesen Resultaten geht deutlich hervor, daß die Wirkung von Saccharase auf Rohrzucker bei einem bestimmten und konstant bleibenden p_H von dieser Wasserstoffionenkonzentration und von der wachsenden Invertzuckerkonzentration so beeinflußt wird, wie es die aus der Strahlungshypothese entwickelte theoretische Formel (3) anzeigt. Der Koeffizient von y, welcher die Abweichung vom einfachen logarithmischen Verlauf der Kurve angibt, ist voraus aus den Konzentrationen von Rohrzucker und Wasserstoffionen und den Absorptionskoeffizienten von Invertzucker und Wasserstoffionen zu berechnen.

Diese Gesetzmäßigkeiten konnte ich bei Wiederholung derselben Versuche auch mit anderen getrockneten Hefemustern innerhalb dieses Intervalls von p_H bestätigen.

Bei größeren und kleineren p_H treten aber Störungen auf, welche bei Enzymuntersuchungen wohl oft schwer zu beseitigen sind. Solange

unsere Kenntnis von den Enzymwirkungen noch so gering ist und die von den Enzymen selbst noch fast ganz fehlt, scheint es mir immer vorsichtiger, diese Werkzeuge der lebenden Zelle so wenig wie möglich chemischen oder physischen Einflüssen bloßzustellen, bevor man sie in vitro untersucht. Man soll die Enzyme zuvor möglichst wenig „denaturieren". Ich habe daher stets die Hefekieselgurmischung nur bei Zimmertemperatur getrocknet und ohne weiteres mit verdünnten Pufferlösungen oder mit n/10 Essigsäure bei 27° extrahiert.

Nun versteht es sich aber, daß diese verfeinerte Reaktionskinetik der Saccharasewirkung nicht nur sehr genaues Analysieren erfordert, sondern auch daß die Enzymkonzentration oder Enzymaktivität während des Versuches genau konstant bleiben soll. Spezielle Kontrollversuche haben mich nun überzeugt, daß dies unter den oben beschriebenen Umständen wirklich der Fall ist. Die Wirkungskraft dieser Lösungen ändert sich nicht in diesen Intervallen von p_H und innerhalb dieser Zeitabschnitte. Aber bei größerem p_H zeigte die Aktivität des klar filtrierten Extraktes eine langsame, geringe Zunahme (um nur einige Prozent der Aktivität), die Übereinstimmung zwischen theoretischer Formel und Experiment ausschloß.

An der anderen, der sauren Seite ist das brauchbare Intervall begrenzt durch die Bedingungen, daß das Enzym während des benutzten Zeitabschnittes durch die hohe Säurekonzentration nicht geschädigt werden darf, und daß die Wasserstoffionen selbst nicht schon merkbar invertieren sollen. Auch in dieser Richtung habe ich die nötigen Kontrollversuche ausgeführt. Ein $p_H = 2{,}97$ war unter den Bedingungen obenstehender Experimente noch harmlos. Viel weiter konnte man aber nicht gehen, ohne schon eine merkbare Schädigung des Enzyms nach einigen Stunden Verweilen der Lösung bei 27° zu konstatieren. Erst bei n Essigsäure fand ich geringe Inversion durch die Wasserstoffionen in 5proz. Rohrzuckerlösung bei 27°; nach 6 Stunden gaben 3 ccm Lösung 3,5 mg Kupfer.

Die Vorgeschichte des Extraktes erwies sich auch von Einfluß auf den Verlauf der Saccharasewirkung. Bereitung, Art und Alter des Hefekieselgurs, Temperatur und Reaktion bei der Trocknung und Extraktion spielen eine Rolle, wodurch manchmal, speziell bei kleiner c, der Faktor $\frac{1 - n_s}{nc + n_s a}$ erhöht, also n_s erniedrigt gefunden wird.

Die Hauptsache — immer kleinere Werte von $\frac{1 - n_s}{nc + n_s a}$ bei höher genommener Azidität, ohne daß eine Schädigung des Enzyms oder direkte Intervierung durch Wasserstoffionen stattfindet — wurde aber stets bestätigt.

Die Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeit der Inversion in verdünnteren Rohrzuckerlösungen bei hoher Wasserstoffionenkonzentration liefert eine Bestätigung der gefundenen Werte von n und zeigt zugleich, wie ohne Berücksichtigung dieses zweiten Einflusses der Wasserstoffionen für die Aktivität eines Enzyms ganz falsche Werte erhalten werden können.

Die Anfangsgeschwindigkeit, wenn also $x = a$, ist nach der Strahlungstheorie

$$-dx = m \frac{a}{a + nc} dt,$$

oder, wenn wieder $\frac{a - x}{a} = y$ gesetzt wird:

$$a\,dy = m \frac{a}{a + nc} dt.$$

Also, wenn $a = 1$ genommen wird, ist

$$m = \frac{dy}{dt}(1 + nc). \tag{4}$$

Nun habe ich mit Rohrzuckerlösungen von 1 Proz. folgende Versuche angestellt:

0,25 g Hefekieselgur wurden wie oben extrahiert, mit einer zu 50 ccm aufgefüllten Lösung von 0,34 g Natriumacetat und 0,25 ccm 0,1 n Essigsäure.

Drei Meßkolben wurden jeder mit 2,551 g Rohrzucker versehen und zu 250 ccm aufgefüllt mit 0,4 n Essigsäure. Ebenso drei mit 0,25 n und drei mit 0,1 n Essigsäure. In jedem Kolben wurden 5 ccm durch 5 ccm Enzymlösung ersetzt und nach Verlauf von der unten angegebenen Minutenzahl wurden 15 ccm zur Invertzuckerbestimmung herausgenommen. Die gefundenen Zahlen für p_H, also auch für nc, die gefundenen Mengen Cu (Mittel aus je drei Bestimmungen) und die diesen in der Tabelle von *Jessen-Hansen* entsprechenden Milligramme Invertzucker (umgerechnet auf Rohrzucker) sind mit in Tabelle IV aufgenommen. Durch Teilung dieser in den Zeitabschnitten dt invertierten Milligramme Rohrzucker durch 150 sind die Werte von dy erhalten. Die Verhältnisse waren so gewählt, daß y noch so klein blieb, daß der Einfluß vom invertierten Zucker vernachlässigt werden konnte, daß also diese erste Strecke der Inversionskurve noch als eine Gerade anzusehen war.

Die Werte für m, nach obenstehender Formel (4) berechnet, sind in der letzten Spalte wiedergegeben.

Tabelle IV. Anfangsgeschwindigkeit der Saccharasewirkung in 1 proz. Rohrzuckerlösung bei hoher Wasserstoffionenkonzentration.

	Wirkungszeit dt Minuten	Cu mg	Invertierter Rohrzucker mg	dy	p_H	nc	m
0,4 n Essigsäure	80	32,4	16,25	0,108	2,64	1,657	0,0036
0,25 n „	60	30,6	15,3	0,102	2,76	1,286	0,0039
0,1 n „	50	31,—	15,5	0,103	3,03	0,69	0,0035

Kurz vorher hatte ich mit demselben Hefekieselgur (aber 0,5 g in zu 50 ccm aufgefüllter Lösung von 0,34 g Natriumacetat und 25 ccm n/10 Essigsäure) einige Versuche durchgeführt in 5proz. Rohrzuckerlösung bei verschiedenem p_H, von $p_H = 2{,}97$ bis $p_H = 4{,}48$, jeden Tag den frisch bereiteten Extrakt auch bei demselben p_H mit dem des vorigen Tages vergleichend. Für die mit Formel (3) für den ganzen Verlauf der Inversion berechneten und konstant bleibenden Werte von m hatte ich gefunden 0,035 für $p_H = 2{,}97$ bis 0,038 für p_H von 3,5 bis 4,48, also selbst für kleine p_H noch nur geringe Abnahme von m.

Die Konzentration von Enzym war also in den Lösungen von 1proz. Rohrzucker gerade zehnmal kleiner genommen als in denen von 5proz. Rohrzucker, und diese Enzymkonzentration wurde auch, wie Tabelle IV zeigt, zurückgefunden.

Ohne den Faktor $(1 + nc)$ zu berücksichtigen, hätten die Versuche in diesen verdünnten und ziemlich sauren Rohrzuckerlösungen die wirklich anwesende wirksame Enzymmenge gar nicht zurückfinden lassen.

Diese Resultate, welche für die experimentelle Begründung der Theorie auch sehr wichtig sind, habe ich durch Wiederholung der Versuche kontrolliert und bestätigt gefunden.

Zusammenfassend kann man das Hauptresultat dieser Arbeit wie folgt ausdrücken:

Die Formel

$$-dx = m\frac{x}{x + nc}\,dt \quad (\text{für } x = a)$$

sagt, selbst frei von jeder Hypothese, daß Substrat und Wasserstoffionen den Effekt, welcher von einem Enzym ausgeht, unter sich in konstantem Verhältnis teilen, und kann also auch aufgefaßt werden, nur die mathematische Formulierung einer Tatsache zu sein, die jetzt auch bei der Untersuchung der Saccharasewirkung gefunden wurde.

Die spezifisch sehr starke Absorbierung dieses Effektes durch Wasserstoffionen, das ist durch die Einheiten positiver Elektrizität, stützt die früher schon ausgesprochene Vermutung, daß die Enzymstrahlung sich als eine Elektronenerscheinung herausstellen würde.

Eine direkte Bekräftigung dieser Ansicht wurde vor kurzem von *Petri*[1]) gegeben, der oberhalb aktiver Enzymlösungen eine meßbare Ionisierung der Luft nachwies, welche verschwand, sobald man das Enzym inaktivierte.

---

[1]) *Petri*, Atti d. Reale Accad. dei Lincei, Rendiconti **31**, 50, 1922; siehe auch Centralbl. f. Bakt. u. Paras. (2. Abt.) **61**, 155, 1924.

Die Methylketone im oxydativen Abbau einiger Triglyceride (bzw. Fettsäuren) durch Schimmelpilze unter Berücksichtigung der besonderen Ranzidität des Kokosfettes.

Anhang:

I. Die Bedeutung der Methylketone im Biochemismus der Butterranzidität.

II. Über die Entstehung und Bedeutung der Methylketone als Aromastoffe im Roquefortkäse.

Von

Max Stärkle.

(Aus dem technisch-chemischen Laboratorium und dem hygienisch-bakteriologischen Laboratorium der eidgenössischen technischen Hochschule in Zürich.)

(Eingegangen am 24. Juni 1924.)

Mit 1 Abbildung im Text.

I. Einleitung.

Die Erforschung der chemischen Veränderungen, die sowohl die animalischen als auch vegetabilischen Fette und Öle im Laufe der Zeit erleiden, ist seit der Ermittlung der Konstitution der Fettkörper durch *Chevreul* in der Mitte des vorigen Jahrhunderts bis heute eines der vielumstrittenen Probleme der organischen Chemie geblieben. So groß auch demzufolge die Zahl der auf diesem Gebiete gemachten Untersuchungen ist, so ist es bis heute doch noch nicht gelungen, die Erklärungen für die Entstehung der Ranzidität eindeutig festzulegen. Die Resultate sind im Gegenteil oft recht widersprechend, wie aus nachfolgender Zusammenstellung — die keineswegs Anspruch auf Vollständigkeit erhebt, sondern nur einige Hauptvertreter einander gegenüberzustellen bezweckt — erhellen wird.

Wir finden denn auch, daß sich die Anschauungen über die *Ursachen der Ranzidität* der Fette im Laufe der Zeit ihrer Entstehung nach in folgende drei Gruppen zusammenfassen lassen:

a) die rein chemische,
b) die fermentative,
c) die biochemische.

Die rein chemischen Erklärungen sind naturgemäß die ältesten, während die fermentativen in die Zeit *Liebigs* fallen, der 1847 erstmals den Begriff eines Ferments „formulierte“ und die Ranzidität mit diesem Begriff in Zusammenhang brachte. Endlich wurde die biochemische Erklärungsmöglichkeit durch die klassischen Arbeiten von *Pasteur* in den 70er Jahren

gegeben, welche uns erstmals mit den besonderen chemischen Leistungen von Mikroorganismen vertraut machten.

Obschon, wie oben erwähnt, die Anschauungen über die *Bedingungen*, die zum Eintritt des Ranzigwerdens eines Fettes notwendig sind, auseinandergehen, so zeigt sich andererseits in *chemischer* Hinsicht mit wenigen Ausnahmen eine ziemliche Übereinstimmung der Resultate.

Der *Vorgang der Ranzidität* dürfte im wesentlichen durch folgende zwei chemische Phasen charakterisiert sein:

1. *Spaltung der Triglyceride* in Fett- (bzw. Öl-) Säuren und Glycerin.
2. *Oxydation* der Fettsäuren, des Glycerins (?) und vor allem der *Ölsäure.*

Die Hauptschwierigkeit der Erklärung bot seit jeher die Frage der *Spaltung der Glyceride*, die eine Antwort insofern erheischte, als ein ranziges Fett sich immer als sauer, nicht aber umgekehrt ein saures Fett sich immer als ranzig erwies[1]).

Gröger und *Beilstein*[2]) vertreten die Ansicht, daß H_2O das einzige notwendige Erfordernis zur Spaltung der Glyceride sei. *Berthelot* (1855) glaubte auf Grund seiner Spaltungsversuche von Triglyceriden im Bombenrohr mittels H_2O annehmen zu dürfen, die Feuchtigkeit der Luft wirke ebenso, nur langsamer, und schließt daraus: Feuchtigkeit ist das Haupterfordernis zur Ranzidität; den fremden Stoffen kommt nur beschleunigende, keineswegs bedeutende Rolle zu. *Juinnemann* vermochte granulierten Talg, den er während 2 Monaten Flußwasser ausgesetzt hatte, vollständig in Fettsäuren überzuführen, was ihn zur Bestätigung von *Berthelots* Ansicht zu berechtigen scheint. Doch läßt sich dem Versuch insofern Unhaltbarkeit vorwerfen, als keineswegs unter Ausschluß fremder Substanzen (Mikroorganismen!) gearbeitet wurde.

Entgegen den obigen Ansichten behauptet *Duclaux*, daß *Sauerstoff und Licht* die Fette allein zu spalten und die Spaltprodukte zu oxydieren vermögen. Der gleichen Ansicht ist *Hefter*[3]). Er ergänzt aber in dem Sinne, daß bei Anwesenheit von Feuchtigkeit die Bildung von H_2O_2 auftritt, wodurch erhöhte Oxydation erreicht wird. *Jorissen* hat außerdem beim Schütteln von Ölen mit Wasser und Luft eine Wasserstoffsuperoxydreaktion nachweisen können. Dasselbe gelang auch *Hefter* bei seinen Arbeiten über die Ursache der Zersetzung des Jodkaliums in Salben. *Ritsert*[4]) stellte an Hand seiner Versuche ebenfalls als allein notwendige Bedingungen *Luft und Licht* fest. Weder Luft noch Licht für sich vermochte Fett ranzig zu machen. Ferment- und Bakterienwirkung schließt er vollständig aus, behauptet sogar, entgegen *Hefter*, daß trockenes Fett unter Lichteinwirkung intensiver ranzig werde als feuchtes. Im Dunkeln lagerndes Fett kann wohl talgig — infolge CO_2-Absorption —, doch nicht ranzig werden.

Liebig[5]) stellte schon 1843 die Hypothese auf, „daß die einem Fett beigemengten fremden Materien (*Stickstoffkörper*) das Ranzigwerden in ähnlicher Weise bewirken wie das Ferment die Gärung zuckerhaltiger Flüssigkeiten. Die Fette würden also um so weniger leicht ranzig, je weniger fremde Stoffe sie enthalten".

---

1) *Hefter*, Technologie der Fette und Öle 1, 123, 1906.
2) *Beilstein*, Handb. d. org. Chem. 1886, S. 427.
3) *Hefter*, l. c., S. 128.
4) *Ritsert*, Inaugural-Diss. Bern 1890.
5) *Liebig*, Handb. d. org. Chem.

Löwig[1]) schreibt in seinem Werke: „Das Ranzigwerden der Fette erfolgt durch eine Art Fermentation bei Anwesenheit von H_2O und Luft und, wie es scheint, nur bei *Anwesenheit stickstoffhaltiger Substanzen*". Der gleichen Ansicht ist auch *v. Fehling*[2]), der sich überdies äußert: „... für letztere Auffassung (*Fermentwirkung*) spricht die Tatsache, daß das Ranzigwerden durch Creosot und andere Mittel verhindert wird". *Benedikt*[3]) schreibt: „Da die neutralen Fette in chemisch reinem Zustande nicht ranzig werden, so schreibt man diese Veränderung der natürlichen Fette kleinen Verunreinigungen zu, welche nach Art der *Fermente* wirken sollen". Einen Schritt weiter geht *Schädler*[4]) mit seiner Annahme, daß „zunächst Spaltung, vielleicht durch gewisse *Pilze* und Fermente stattfindet". Ebenso schloß *Schulz*[5]) — an Hand eines Versuchs, bei dem er zwei Kölbchen mit Öl, das eine mit Watte, das andere unverschlossen, 7 Monate lang stehen ließ, wobei im ersteren das Öl frisch blieb, im anderen sauer wurde — auf die *Mitwirkung von Mikroorganismen*. Die Ansicht *Duclaux*' geht dahin, daß Fette infolge ihrer Wasserunlöslichkeit als Nährsubstrat für die lebende Zelle nicht in Betracht kommen können. Er glaubt, daß die auf Butter und Fetten existierenden Mikroorganismen die Kohlehydrate und stickstoffhaltigen Körper verzehren. In einer späteren Arbeit[6]) fand er jedoch, „daß Penicillium glaucum eine Fettspaltung in gleicher Weise bewirken kann wie die Luft, d. h., daß es eine Verseifung des Fettes herbeiführt, welcher in erster Linie die Glyceride der flüchtigen Fettsäuren anheimfallen. Ein Teil der letzteren verflüchtigt sich, ein anderer Teil wird vom Pilz verzehrt und auch durch NH_3, das aus dem Caseinrest der Butter gebildet wird, verseift" (Bildung der Ammonseife). *Lewkowitsch*[7]) unterstützt die Ansicht der Mitwirkung von Fermenten. Er erwähnt, daß bei gut gereinigten Ölen Bildung von freien Fettsäuren nur in sehr beschränktem Maße eintritt und umgekehrt. Letzterer Fall ist besonders hervortretend, wenn Fette längere Zeit mit stickstoffhaltigen Substanzen zusammenliegen, wo sich Gelegenheit bietet, Fermente aufzunehmen (Nachschlagolivenöle, Sulfuröle, Palmöl, *Kokosöl*, sodann auch animalische Fette, die lange in den Geweben liegen bleiben).

So viel über die *Aufspaltung* der Glyceride; die *Oxydation der Spaltprodukte* machte eine gesonderte Betrachtung notwendig. *Daß* diese tatsächlich oxydiert werden, dafür sprechen die von verschiedenen Forschern gefundenen Oxydationsprodukte der Fettsäuren des Glycerins (?) und insbesondere der *Ölsäure*, wie Ameisen-, Azelain-, Kork-, Sebacin-, Oenanth- und Pelargonsäure, ferner *Oenanth- und Pelargonaldehyd*[8])[9]).

---

1) *Löwig*, Org. Chem. 1847.
2) *v. Fehling*, Handb. d. organ. Chem. 1878.
3) *Benedikt*, Analyse der Fette und Öle 1886, S. 32.
4) *Schädler*, Technologie der Fette und Öle.
5) *Schulz*, Pflügers Arch. **15**, 1887.
6) *Duclaux*, Le lait.· Paris 1897.
7) *Lewkowitsch*, Technologie der Fette, Öle und Wachse **1**, 28; Jahrb. d. Chem. 1902, S. 363.
8) *Victor Meyer-Jacobsohn*, Lehrb. d. organ. Chem. I², S. 145.
9) *Scala*, C. **1**, 439, 1898.

Im allgemeinen scheint der *Oxydationsvorgang* im Gegensatz zur Fettspaltung unumstritten zu sein, und werden *Luft und Licht* als einzig nötige Bedingungen anerkannt.

Was die *Oxydation der freien, gesättigten Fettsäuren* betrifft, so sind nach *Lewkowitsch*[1]) mehrere Beobachter, die die Acetylzahl falsch bestimmten, der Meinung, daß Sauerstoff unter Bildung von Hydroxysäuren vom Fett aufgenommen werde.

Bodzinsky und *Rufy*[2]) glauben sogar, daß *nur* freie Fett- und Oxyfettsäuren die Ranzidität ausmachen. *Gröger*[3]) hat jedoch gefunden, daß die Fettsäuren aus sechs verschiedenen Fetten, die während langer Zeit der Luft ausgesetzt waren, zu Fettsäuren von niederem Molekulargewicht abgebaut werden, somit also nicht ausschließlich Sauerstoff addiert hatten. Derselbe wies auch als Oxydationsprodukte dieser Fettsäuren Azelain- und Korksäure nach.

Über die *Oxydation des Glycerins* haben sich u. a. *Liebig* und *Gröger* dahin geäußert, daß es, ebenso wie die Fettsäuren, oxydiert werde, da es ihnen nicht gelang, in ranzigen Fetten freies Glycerin nachzuweisen.

Lewkowitsch[4]) begründet die Unhaltbarkeit obiger Behauptung einerseits mit der Schwierigkeit, geringe Mengen Glycerin nachzuweisen, und deutet andererseits auf die Möglichkeit hin, daß die Spaltung der auf Glycerin untersuchten Fette nur bis zur Bildung von Mono- und Diglyceriden fortgeschritten sein kann, somit gar kein Glycerin in Freiheit gesetzt werde. Versuche von *Kremann*[5]) und *J. Meyer*[6]) beweisen denn auch letztere Auffassung, wonach die Verseifung von Triglyceriden in wässerigen Lösungen sowohl durch Alkalien als durch Säuren *stufenweise* erfolgt.

In vollem Einklang damit steht auch Punkt 4 des Kreistestes (siehe weiter unten), der besagt, daß *Glycerin* für die Ranzidität des Fettes praktisch *keine Bedeutung* hat.

Sind bei einer Fettzersetzung offensichtlich Mikroorganismen mit im Spiel, so könnte dem Glycerin eine sekundäre Bedeutung zukommen, indem es denselben als wasserlösliches Nährsubstrat dient. So berichtet *Spieckermann*[7]) in seiner Arbeit: „Die Zersetzung der Fette durch höhere Pilze“ von einem quantitativen Versuch, bei dem von Penicillium glaucum 70 bis 75 Proz. des Glycerins veratmet und der Rest zum Aufbau verwendet wurde.

Wesentlich wichtiger scheinen die *Oxydationsprodukte der Ölsäure* (und *Linolsäure*) zu sein. So stellte *Scala* (l. c.) fest, daß Fette mit steigenden Mengen Ölsäureglyceriden rascher und intensiver ranzig werden. Er wies als Hauptriechstoff vor allen anderen den *Önanthaldehyd* neben den oben zitierten Körpern nach.

Schmid[8]) verwendete diese Tatsache, um ranzige Fette mittels einer typischen Aldehydreaktion (m-Phenylendiamin → *Schiff*sche Base; Gelb-

---

[1]) *Lewkowitsch*, Analyst 1899, S. 328.
[2]) *Bodzinsky* und *Rufy*, Zeitschr. f. analyt. Chem. 1890, S. 69.
[3]) *Gröger*, Zeitschr. f. angew. Chem. 1889, S. 62.
[4]) *Lewkowitsch*, Technologie d. Fette und Öle **1**, 31, 1905.
[5]) *Kremann*, M. 25, 919.
[6]) *J. Meyer*, Zeitschr. f. Elektrochem. **13**, 485.
[7]) *Spieckermann*, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. **23**, 305, 331.
[8]) *Schmid*, Zeitschr. f. analyt. Chem. 1898, S. 301.

färbung!) kenntlich zu machen (seine Meinung ging jedoch dahin, daß die Aldehyde durch Oxydation des Glycerins entstanden seien). *Lewkowitsch*[1]) wies jedoch nach, daß ein deutlich *ranziges Kokosöl* diese Reaktion *nicht* gab und rät, alle Angaben über das Vorkommen *aldehydartiger* Substanzen mit Vorsicht aufzunehmen. Trotz der unzweideutigen Stellungnahme *Lewkowitschs* gegen eine Verallgemeinerung dieser Reaktion als Kriterium für die Ranzidität eines Fettes wurde in allerjüngster Zeit der *Kreistest* festgelegt[2]), der das Maß der Ranzidität eines Fettes (analog dem *Schmid*schen Versuch) auf kolorimetrischem Wege erkennen lassen soll[3]).

Es sei mir gestattet, die Hauptresultate dieser *neuesten* Ranziditätsversuche den vorangehend zitierten Anschauungen vergleichend gegenüberzustellen. Sie lassen sich etwa durch folgende vier Punkte ausdrücken:

1. *Licht* beschleunigt sehr die Zersetzung des Fettes bei gewöhnlicher Temperatur.

2. Die *Zunahme von freien Fettsäuren* hat keinen Bezug auf die Stärke der Kreisreaktion.

3. Das *Auftreten von Pilzen* ist begleitet vom beobachteten Anwachsen der freien Fettsäuren.

4. *Anwesenheit von freier Ölsäure begünstigt* die Bildung der die Kreisreaktion bedingenden Bestandteile, während *Glycerin* praktisch *keine Bedeutung* hat.

Punkt 1 bestätigt, was verschiedene Autoren schon früher fanden, nämlich, daß zur Spaltung und Oxydation der Fette Luft und *Licht* notwendig sind.

Punkt 2 steht in vollem Einklang mit dem eingangs ausgesprochenen Grundsatz, daß ein ranziges Fett immer sauer, ein saures Fett dagegen nicht immer ranzig zu sein braucht.

Punkt 3 deutet durch beobachtetes Anwachsen der Säurezahl auf die später beschriebene Lipasewirkung einiger Schimmelpilze, vornehmlich Penicillium glaucum, hin und dient mir unter anderem als wertvolle Bestätigung meiner gefundenen Resultate.

Punkt 4 besagt klar, daß die *aldehydartigen Körper nur aus Ölsäure* (eventuell Linolsäure), nicht aber, wie verschiedene Autoren früher behaupteten, aus *Glycerin oder Fettsäuren* (Punkt 2) entstehen. Daraus

---

[1]) *Lewkowitsch*, Jahrb. f. Chem. 8, 392.

[2]) Journ. of the Soc. of chem. industry 42, Nr. 43, S. 417 (Jessis Florence Bevis).

[3]) Hierbei wird die Äther-HCl-Lösung des Fettes zu einer 0,1 proz. ätherischen Phloroglucinlösung zugefügt, wodurch sich letztere bei Anwesenheit von Aldehyden (Önanth- und Pelargonaldehyd) orange bis rot färbt. Durch Verdünnen dieser Proben mittels Petroläther bis auf eine durch Standardflüssigkeit festgelegte Nuance läßt sich der Grad der Ranzidität durch die Menge Verdünnungsmittel proportionsmäßig ausdrücken.

folgt aber ohne weiteres, daß Fette mit *sehr geringem Ölsäuregehalt* entweder *nicht* oder nur *sehr schwer ranzig werden* können.

Zufolge des *minimalen Ölsäuregehaltes des Kokosöls* (nach *Elsdon* 2 Proz.) läßt sich das Versagen der von *Lewkowitsch* (s. oben) angestellten Aldehydreaktion also leicht erklären. Gleichzeitig erscheint aber eine Unzulänglichkeit des Kreistestes für diesen speziellen Fall, da das untersuchte Kokosfett nach *Lewkowitsch deutlich ranzig war, ohne eine Kreisreaktion gegeben zu haben*[1]).

Unwillkürlich drängt sich an dieser Stelle die Vermutung auf, daß das *Kokosöl* offenbar seine Ranzidität anderen, *nicht aldehydartigen* Körpern verdanke. Die darin in bescheidener Menge vertretene Ölsäure kann also nicht die Ursache sein; ebensowenig kommt nach Punkt 4 das Glycerin in Betracht. Es bleiben somit nur noch die *freien, gesättigten Fettsäuren* übrig.

Tatsächlich nimmt das Kokosfett dank seiner Herkunft, Zusammensetzung und Gewinnung in bezug auf Ranzidität unter allen Fetten eine Sonderstellung ein. *Die ranziditätsbedingenden Stoffe des Kokos- (und Palmkern-) Öls sind im wesentlichen eine Reihe von Methylketonen, entstanden durch oxydativen Abbau von Triglyceriden durch Schimmelpilze.*

Die Charakterisierung und Erklärung der Entstehung dieser Körper ist der Zweck der vorliegenden Arbeit.

II.

Nach der mir bis heute bekannt gewordenen Literatur wurden *Untersuchungen der ranziditätsbedingenden Stoffe im Kokosfett* von *Haller* und *Lassieur*[2]) ausgeführt. Sie fanden neben freien Fettsäuren (Capron-, Capryl-, Caprin- und Laurinsäure) hauptsächlich nachfolgende Körper: Methylheptylcarbinol, Methylheptylketon, Methylnonylcarbinol, Methylnonylketon, Methylundecylketon, wovon etwa 70 Proz. auf Methylnonylketon, etwa 20 bis 25 Proz. auf Methylheptylketon und der Rest auf die übrigen Komponenten entfallen sollen.

Die von mir gemachten Untersuchungen bestätigten im wesentlichen die Resultate obiger Autoren, doch gelang es mir nicht, das (von *Haller* und *Lassieur* als nur in geringen Mengen vorhanden angegebene) Methylundecylketon zu isolieren. Dagegen ergab die sorgfältige Fraktionierung eine wasserhelle, amylesterartig riechende Flüssigkeit vom Siedepunkt 45 bis 55° (12 mm). Das Semicarbazon dieser Fraktion besaß nach einmaligem Umkristallisieren aus Alkohol einen

[1]) Es wäre interessant, den Standpunkt der Testautoren in dieser Frage kennenzulernen.

[2]) *Haller* und *Lassieur*, C. r. 150, 1013; 151, 697.

Fpt. von 122 bis 123⁰. Aus Analogiegründen lag die Vermutung nahe, daß *Methylamylketon* vorliegen werde, was sich denn auch durch die *Mischprobe* mit dem Semicarbazon eines synthetisch hergestellten Methylamylketons bestätigte; die Mischung schmolz ebenfalls bei 122 bis 123⁰.

Auf Grund der Kenntnis der chemischen Beschaffenheit dieser Stoffe suchte ich nach einer *technischen Methode*, diese aus dem Fett zu entfernen, das Fett zu desodorisieren[1]). In erster Linie trachtete ich danach, die *Ketone* auf chemischem Wege herauszubekommen; die Carbinole durch Oxydation in die entsprechenden Ketone überzuführen, erschien mit keinen großen technischen Schwierigkeiten verbunden.

In Anbetracht des negativen Erfolges, den die in dieser Richtung unternommenen Versuche zeitigten, sei mit einigen Worten darauf hingewiesen:

Natriumbisulfit, in 20proz. Lösung angewendet, entzog dem Fett nach tagelangem Schütteln die zugeführte Ketonmenge nicht vollständig. *p-Phenylhydrazinsulfosäure* kommt ebenfalls nicht in Betracht, da diese mit Aldehyden und Ketonen keine Kondensation eingeht, sondern unter Bildung lockerer Additionsverbindungen sich an sie anlagert[2]). Versuche bestätigen dies. *Tierkohle* vermochte wohl in verhältnismäßig kurzer Zeit mit Methylnonylketon verunreinigtes Wasser zu desodorisieren, doch gelang es nicht, bei Ersatz des Wassers durch Fett die gleiche Wirkung zu erzielen. *Semicarbazid-HCl* kam aus praktischen Gründen nicht in Frage.

Die unbefriedigenden Resultate veranlaßten mich, das oben erörterte Problem der *Beseitigung* der Stinkstoffe zu verlassen. Ganz besonders wertvoll schien mir nunmehr das Problem der *Entstehung* derselben zu sein.

Im Interesse der Verständlichkeit seien an dieser Stelle einige Daten über Herkunft, Gewinnung und Zusammensetzung des *Kokosöles* vorausgeschickt[3]):

Bekanntlich entstammt das Kokosöl den Samen der Kokospalme (Cocos nucifera L.). Dieser, eine fleischige Hohlkugel von 10 bis 12 cm Durchmesser und einer Wanddicke von 1 bis 2 cm, ist von einer steinharten Holzschale und diese wiederum von einer 3 bis 4 cm dicken Faserschicht umgeben. Im Innern des Samens befindet sich im unreifen Zustande eine

---

[1]) Die zu meinen Untersuchungen nötigen Rohmaterialien, wie rohes und raffiniertes Kokosfett, als auch die Wasserdampfdestillate des Raffinationsprozesses wurden mir in liebenswürdiger Weise vom Inhaber der Speisefettwerke in Wädenswil, Herrn *Heinrich Rusterholz*, zur Verfügung gestellt, wofür ich ihm meinen besten Dank aussprechen möchte.

[2]) *Biltz*, *Maué* und *Sieden*, B. 35, 2000.

[3]) Nähere Angaben hierzu: *Hefter*, Technologie der Fette und Öle 2, 586ff. Berlin, Springer, 1908. *Lewkowitsch*, Technologie der Fette, Öle und Wachse 2, 323, 1905.

säuerlich-süße Flüssigkeit (Kokosmilch), die sich zur Zeit der Reife zu dem weißen, fettreichen Fruchtfleisch verdichtet. Bei der Ernte werden die von den Fasern befreiten Nüsse mit einem Axthieb oder maschinell aufgespalten, das Fruchtfleisch in größeren Stücken herausgestochen und an der Sonne, im Vakuum oder über Feuer getrocknet. Die so gewonnenen, wenn gut getrocknet, ziemlich haltbaren Schalen[1]) kommen unter dem Namen „Kopra" in den Handel und enthalten 60 bis 65 Proz. Rohfett. Die *nicht* getrocknete *reife* Kokosnuß setzt sich nach *Lépine*[2]) etwa folgendermaßen zusammen:

Wasser	53,08 Proz.
Albumin	0,30 „
Zucker	0,48 „
Harzstoffe	0,71 „
Fett	30,00 „
Rohfaser	14,41 „
Kalkphosphat / NaCl	1,10 „

Das *Fett* derselben besteht nach *Elsdon*[3]) aus den Glyceriden der

Capronsäure	2 Proz.
Caprylsäure	9 „
Caprinsäure	10 „
Laurinsäure	45 „
Myristinsäure	20 „
Palmitinsäure	7 „
Stearinsäure	5 „
Ölsäure	2 „

Für die *Herkunft der Riechstoffe* im „ranzigen" Kokosöl scheinen mir nun folgende zwei Möglichkeiten in Frage zu kommen:

1. Die Stoffe sind *ursprünglich* in der Kokosnuß vorhanden.

2. Sie sind ursprünglich nicht vorhanden, bilden sich aber während der Aufarbeitung unter gewissen Bedingungen, wobei ich aus praktischen Gründen die folgenden nennen möchte:

a) Fermentation *ohne* Mitwirkung von Mikroorganismen (abiontisch);

b) Fermentation unter Mitwirkung von Mikroorganismen (biontisch).

Versuche von *Haller* und *Lassieur* (l. c.), aus Kokosnüssen besagte Körper zu isolieren, weisen auf die zweite Möglichkeit hin. Die gleichen Autoren äußern sich deshalb am Ende ihrer zweiten Arbeit dahin, „daß die Riechstoffe, ohne Zweifel unter Einwirkung eines Ferments (einer Zymase), auf einen noch *unbekannten* Stoff in der Kopra durch Aufspaltung desselben in die Ketone und Alkohole, entstehen". Diese

---

[1]) Nach *Herbert* und *Walker*, The keeping qualities and the cause of rancidity in cocoanutoil (The Philippine Journal of Science, Manila, Februar 1906) gibt eine Kopra von 4,76 Proz. Wasser keinen Boden für Pilzkulturen mehr.

[2]) *Lépine* aus *Hefter*, l. c. 2, 594.

[3]) *Elsdon*, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. 1, 436, 1914.

Theorie näher hier zu diskutieren, erübrigt sich, da sie, wie ich nachher zeigen werde, unzutreffend ist.

Im Gegensatz zu *Haller* und *Lassieur* suchte ich, von den **bekannten** Komponenten ausgehend, die Entstehung der Ketone und Alkohole zu erklären.

Die *Homologie* der *Ketone* einerseits und der an Glycerin gebundenen *Fettsäuren* andererseits weist denn auch deutlich auf die Wahrscheinlichkeit eines *generellen Zusammenhanges* hin.

Als Voraussetzung zur experimentellen Beweisführung dieses generellen Zusammenhanges mußte es gelingen, eine chemische Synthese zu finden, welche *in vitro* aus Fettsäuren Ketone liefert, die unter ähnlichen Bedingungen *in vivo* gebildet werden. Diesen Anforderungen wird die *Dakinsche Synthese* gerecht[1]).

1 Mol Fettsäure wird mit NH_3 schwach alkalisch gemacht und mit 2 Mol 3proz. H_2O_2 vorsichtig destilliert; hierbei entstehen unter anderem aus:

Caprylsäure	⟶	Methylamylketon
Caprinsäure	⟶	Methylheptylketon
Laurinsäure	⟶	Methylnonylketon
Myristinsäure	⟶	Methylundecylketon

Die Ausbeute für diese Ketone ist gering (etwa 5 Proz.), steigt aber mit fallendem Molekulargewicht der verwendeten Säure. Die Reaktion verläuft nach folgendem Schema:

$$RCH_2CH_2\vdots COO\vdots NH_4\vdots \xrightarrow{O_2} RCHOHCH_3 \xrightarrow{O_2} RCOCH_3.$$

Zufolge der großen Tendenz der β-Oxy- bzw. Ketosäuren, Kohlensäure abzuspalten und in Alkohole bzw. Methylketone überzugehen, vollzieht sich letzterer Vorgang oft schon bei Zimmertemperatur.

Die Anwesenheit der oben angeführten Fettsäuren im Kokosfett einerseits und der Nachweis der vier diesen entsprechenden Methylketone im ranzigen Kokosfett (wie auch der zwei sekundären Alkohole als Zwischenstufen) andererseits gewährleisten also *die praktische Verwendung dieser Synthese zur experimentellen Beweisführung.*

Nach der *Dakin*schen Synthese ist zur Bildung der Methylketone aus den Fettsäuren bzw. deren Ammonsalze *Stickstoff* erforderlich (Ammonsalze!).

Das „ranzige" Kokosfett des Handels enthält eine Reihe von *Methylketonen* (*Haller* und *Lassieur* und meine Untersuchungen).

Diese beiden Tatsachen ließen mich folgende Überlegungen machen:

1. Wenn die Bildung der Ketone im Sinne der *Dakin*schen Synthese verläuft, so müssen beim Ranzigwerden des Kokosfettes *Stickstoffsubstanzen* zugegen sein.

---

[1]) *Dakin*, Journ. of biol. Chem. **4**, 227; **6**, 373; Amer. Chem. Journ. **44**, 41.

2. Bei *stickstofffreiem* (raffiniertem!) *Kokosfett* muß eine Ketonbildung *unterbleiben*, während andererseits die Annahme nahe liegt, daß

3. ein *Zusatz* von geeigneten *Stickstoffsubstanzen* zu dem raffinierten Kokosfett die *Bildung von Ketonen* ermöglichen könnte.

Diese Fragen werden durch folgende Versuche geklärt:

1. Versuch.

Experimentelles: In je einen ½-Liter-Rundkolben wurden 250 g reines Kokosfett gebracht; das Fett für Probe A wurde vorher im Exsikkator über P_2O_5 getrocknet. Beide Fette waren stickstofffrei. Durch den Kolben *A* wurde mit NaOH und konzentrierter H_2SO_4 gewaschene *trockene*, durch *B* ebenfalls sauer und alkalisch gewaschene, *nicht trockene* Luft geleitet. Die Temperatur schwankte zwischen 40 und 80°. Dauer des Versuchs: 3 Monate, wobei täglich etwa 5 bis 6 Stunden durchlüftet und in der übrigen Zeit (über Nacht) das Fett erkalten gelassen wurde. Nach den ersten 3 Monaten wurden die Proben, leicht verkorkt, sich selbst überlassen und nach oben angeführten Zeitintervallen jeweils titriert.

Tabelle I.

	Säurezahl nach 3 Monaten	Geruch	Säurezahl nach 8 Monaten	Geruch	Säurezahl nach 18 Monaten	Geruch
Trockene Luft (Versuch A)	3,5	talgig	7,1	schwach ranzig	7,8	schwach ranzig
Feuchte Luft (Versuch B)	3,8	„	6,0	schwach ranzig	7,1	schwach ranzig

Resultat: Es zeigte sich ein schwach ranziger (dem minimalen Ölsäuregehalt des Kokosfettes entsprechender!) Geruch; *Auftreten eines Ketongeruchs* war *nie* wahrnehmbar. Die Aufspaltung der Fette (Luft, Licht, Säurezahl!) geschah in diesem Falle rein chemisch; Fermente und Mikroorganismen waren ausgeschlossen (Fehlen des N; Temperatur!).

2. Versuch.

Dieser umfaßt *acht Variationen der Komponenten*: Fett, Eiweiß, Wasser, Luft, Licht, die als Parallelversuche nach folgendem Schema aufgesetzt wurden (s. Tabelle II):

Experimentelles: Das Fett wird in einer Flasche auf etwa 60° vorgewärmt; das für den Versuch bestimmte Quantum Eiweiß wird in der abgemessenen Menge H_2O gelöst und letzteres unter kräftigem Schütteln portionenweise in die Flasche gegeben. Hierauf wird das Gemisch unter stetem Schütteln abkühlen gelassen bis auf etwa 20 bis 25° und in eine auf Eis vorgekühlte Kristallisierschale ausgegossen.

Die Proben waren in einem ziemlich staubfreien, unbenutzten, östlich gelegenen Zimmer (direkte Beleuchtung) des Instituts aufgestellt. Probe 2 war in einer Tischschublade und Probe 6 unter einer Blechschachtel vor Lichtzutritt geschützt; Probe 8 wurde in einen Erlenmeyer eingefüllt, die Luft durch CO_2 verdrängt und durch paraffinierten Kork luftdicht verschlossen.

Tabelle II.

Beginn: 10. IV.	1. V.	20. V.	10. VI.	10. IX. 1923	10. IV. 1924
1. Kokosfett, N-frei, Luft, Licht	—	—	—	—	Säurezahl 2,0
2. KF, N-frei ohne Licht	—	—	—	—	0,16
3. 250 KF, 100 H_2O, Luft, Licht	—	—	—	—	2,0
4. 100 KF, 3 Albumin, im Exsikkator	—	—	—	—	2,0
5. 250 KF, 122 H_2O, 2 HE	—	—	—	bräunl. Flecken, schwacher Fettsäuregeruch	3,2
6. 250 KF, 120 H_2O, 45 HE, ohne Licht	—	7 lokalisierte „gelbe Flecken". Ketongeruch![1])	gelbe u. braune Flecken. kräftiger Ketongeruch	—[2])	—
7. 300 KF, 100 H_2O, 110 HE, Luft, Licht	starke Zersetz., gelbe u. braune Flecken, Fettsäure- u. Ketongeruch	Fortschreiten d. Zersetzung, Vorherrschen d. Fettsäuregeruchs (Capronsäure)	wie 20. V., kein Ketongeruch wahrnehmbar	stark braun durchsetzt, intensiver Geruch nach Fettsäuren!	—
8. 200 KF, 150 H_2O, 40 HE, CO_2-Atm.	—	—	—	talgiger Geruch	—

KF = Kokosfett (rein, N-frei).
HE = rohes Hühnereiweiß.

[1]) Diese „gelben Flecken" zeigen morphologisch die größte Ähnlichkeit mit kolonieartigem Wachstum von Mikroorganismen.

[2]) Zur mykologischen Analyse verwendet.

Resultate: a) *der stickstofffreien Proben* 1, 2, 3. Die Säuretitration dieser Proben nach 12 Monaten zeigt überaus deutlich die in der Einleitung erwähnte Tatsache, daß Fett neben Luft vor allem *Licht* benötigt, um *ranzig* zu werden; während die *belichteten* Proben, sowohl im Trocknen als auch die Fett-H_2O-Emulsionen sich in bezug auf Acidität nahezu gleich verhielten — sogar die mit wenig Eiweiß versetzte Probe 5 zeigte wenig mehr Säure — so nahm andererseits die *unbelichtete* Probe 2 mit einer ungefähr zwölfmal geringeren Säurezahl eine prägnante Sonderstellung ein.

b) *Der stickstoff-(eiweiß-)haltigen Proben*: Diese lassen sich dahin zusammenfassen: *Ohne H_2O findet keine Ketonbildung statt* (Probe 4). *Ohne Luft* (CO_2-Atmosphäre) ist *Ketonbildung* ebenfalls *ausgeschlossen* (Probe 8).

Licht ist zur *Ketonbildung nicht erforderlich* (Probe 6); der *Ausschluß des Lichtes* scheint nach obigen Versuchen eher eine *Ketonbildung* zu *begünstigen.*

Unter *Berücksichtigung der Dakinschen Synthese* läßt sich aus den bisher gefundenen Resultaten folgender Schluß ziehen:

1. *Ohne N-Substanzen* kann *keine Ketonbildung entstehen!* (N zur Bildung von NH_4-Seifen notwendig!)

2. *Wasser und Luft* sind obligate Bestandteile; diese weisen auf aerobe Mikroorganismenmitwirkung hin (gelbe Flecken!). Letzteren käme somit vermutlich die Aufgabe zu, die Fette zu spalten und die Proteinsubstanzen zu NH_3 abzubauen.

3. *Licht* ist nicht nur nicht notwendig, sondern hält Ketonbildung hintan (Lichtempfindlichkeit der Mikroorganismen). Andererseits erfordert die gewöhnliche Ranzidität der Fette unbedingt Licht; es erlaubt dies schon den Schluß, daß wir es hier mit einer *Ranzidität besonderer Art* zu tun haben.

Besonders auffallend war, daß immer da, wo Ketonbildung auftrat, sich früher oder später jene „gelben Flecken" einstellten, was auf die Lebenstätigkeit von Mikroorganismen schließen ließ. Um den ursächlichen Zusammenhang dieser gelben Flecken mit der Ketonbildung abzuklären, wurden Probe 6 (Tabelle II) und eine Flasche mit Rückständen einer Fett-H_2O-Gelatinemischung, die die charakteristische Geruchserscheinung aufwies, einer mykologischen Analyse unterzogen, die später aufgeführt sei.

Statt durch Fett-Wasser-Eiweißmischungen eine der Kokosnuß ähnliche Grundlage zu schaffen (Versuch 2), unternahm ich im

3. Versuch
den qualitativen Nachweis der Ketone in faulender Kokosnuß.

Experimentelles: 250 g geraspelter Kokosnuß wurden in Kristallisierschalen, durch Glasplatte bedeckt, sich selbst überlassen. Die Zimmertemperatur war tagsüber etwa 16 bis 18°, nachts etwa 8° (Januar). Die Probe war vor direktem Sonnenlicht geschützt.

Nach etwa 2 bis 3 Tagen zeigten sich an verschiedenen Stellen der locker gelagerten Kokosnußfasern von bloßem Auge erkennbare, gelbgrüne und weiße Kolonien, die sich im Laufe der folgenden Tage zu einem dichten grünlichen und weißen Rasen gleichmäßig über die Oberfläche ausbreiteten. Gleichzeitig stellte sich auch der bekannte typische Geruch nach faulender Kokosnuß ein. Nach 10 Tagen war der Höhepunkt ungefähr erreicht; die ganze Masse war grün-gelb durchsetzt, an einigen Stellen zeigten sich schwarzbraune, an anderen Stellen weiße, dichte Mycelhaufen; der Geruch war *überaus intensiv*, keineswegs unangenehm, an Amylacetat erinnernd. An der Glasplatte zeigte sich reichlich Kondenswasser, das, wenn abgestreift, sich in 1 bis 2 Stunden wieder angesammelt hatte. Die Temperatur im Innern der Masse war also entschieden höher als die Außentemperatur, was durch bloßes Berühren der Schale deutlich erkannt werden konnte.

Nach 14 *Tagen* seit Beginn des Versuchs ging ich an die

Aufarbeitung der Riechstoffe.

Zu diesem Zwecke wurden 150 g der noch feuchten Kokosnußfasern im Soxhletapparat während 6 Stunden mit Äther extrahiert. Die ätherische Lösung des Extraktes wurde mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und der Äther vorsichtig abdestilliert.

Aus 150 g schimmliger Kokosnuß erhielt ich *90 g ätherlöslichen Extrakt.*

Von diesen wurden 40 g weiter verwendet wie folgt: Nach vollständiger Lösung derselben in etwa 200 ccm Äther wurde unter Phenolphthaleinzusatz so lange KOH (etwa n/5) zugefügt, bis auch nach einigem Stehen die rote Farbe erhalten blieb. Um kaum zu trennende Emulsionen zu verhüten, ist darauf zu achten, daß die Kalilauge nicht in konzentrierterer Form und nicht unter Schütteln, sondern unter leichtem Schwenken des Scheidetrichters aus einer Bürette zulaufen gelassen wird.

Nach zwei- bis dreimaligem Auswaschen der Ätherlösung mit viel Wasser wurde die wässerige Lösung der Kaliseifen für sich angesäuert, und die freien Fettsäuren wurden mit Äther extrahiert und gewogen. Aus den eingewogenen 40 g resultierten *21,8 g Fettsäuren*, die keiner näheren Analyse unterzogen wurden.

Die ätherische Lösung der *Neutralteile* ergab nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abdestillieren des Äthers einen weißen, festen Rückstand von 17,5 g. Dieser wurde im Vakuum destilliert; es gingen 2,9 g einer wasserhellen Flüssigkeit vom Siedepunkt 40 bis 106° (10 mm) über. Der Rückstand von 14,6 g bestand aus weißem, sozusagen geruchlosem Kokosfett.

Zur *Isolierung der einzelnen Ketone* wurde mit wässerig-alkoholischer Semicarbazid-Kaliumacetatlösung versetzt, wobei momentan ein dicker Brei von Semicarbazonen ausfiel. Letzterer wurde nach einigem Stehen abgenutscht, mit Wasser, und nach dem Trocknen mit tiefsiedendem Petroläther ausgewaschen. Derselbe Petroläther wird vorteilhaft auch zum Ausziehen des wässerigen Filtrats verwendet. Die mit Semicarbacid nicht reagierenden Teile bestanden nach Abdestillieren des Petroläthers aus etwa **0,5 ccm** einer farblosen Flüssigkeit vom Siedepunkt 80 bis 109° (10 mm) und typischem Geruch nach faulender Kokosnuß. Mangels genügenden Materials mußte von einer Analyse Abstand genommen werden, doch ist zweifellos der gefundene Körper identisch mit dem von *Haller* und *Lassieur* wie auch von mir aus „ranzigem" Kokosfett isolierten *Methyl-heptyl-* und vornehmlich *Methyl-nonylcarbinol*, was durch Geruch und Siedepunkt bestätigt wird.

Das Semicarbazongemisch wurde hierauf zur Aufspaltung in H_2SO_4 (1 : 1) suspendiert und das Ketongemisch mit Wasserdampf abgeblasen. Nach Ausäthern des Destillates wurde die Ätherlösung getrocknet und in den Fraktionierapparat gebracht. [Zur Fraktionierung im Vakuum verwendete ich den mir von Herrn Dr. *G. Widmer* freundlichst zur Verfügung gestellten Fraktionieraufsatz, der mir vorzügliche Dienste leistete[1]).]

1. Fraktion	40	bis	60°	(10 mm)	5 Tropfen
Zwischenfraktion	60	„	70	(10 „)	3 „
2. Fraktion	70	„	75	(10 „)	0,9 ccm
Zwischenfraktion	75	„	105	(10 „)	0,9 „
3. Fraktion	105	„	107	(10 „)	1,2 „

Von allen Fraktionen wurden Semicarbazone hergestellt.

Schmelzpunkte und Mischproben.

1. Fraktion (40 bis 60°): Semicarbazon (1 × Alkohol) . . Fpt. 122 bis 123°
Semicarbazon des synthetischen Methylamylketons . „ 121 bis 123°
Mischprobe . . . . „ 121 bis 122°
= *Methylamylketon.*

[1]) *G. Widmer*, Diss. E. T. H. Zürich 1923.

2. *Fraktion* (70 bis 75°): Semicarbazon (1 × Essigester) . .	Fpt. 116 bis 118°
Semicarbazon des Methylheptylketons aus „ranzigem" Kokosfett isoliert	„ 119 bis 120°
Mischprobe	„ 118 bis 120°
= *Methylheptylketon.*	
3. *Fraktion* (105 bis 107°): Semicarbazon (1 × Alkohol) .	Fpt. 122 bis 123°
Semicarbazon des Methylnonylketons aus „ranzigem" Kokosfett isoliert	„ 123 bis 124°
Mischprobe	„ 122 bis 124°
= *Methylnonylketon.*	

Dieser Versuch läßt eindeutig die vermutete Ursache und das Wesen der „ranzigen" Stoffe des Kokosfettes erkennen.

In ähnlicher Weise hat man sich nunmehr den Hergang der Ketonbildung in der Technik bzw. bei der Gewinnung und Verarbeitung der Kokosnüsse im großen vorzustellen. Läßt man die aufgespaltenen Kokosnüsse längere Zeit haufenweise liegen, wie es bei unrationellem Arbeiten tatsächlich gemacht wird, so stellt sich auf dem einen vortrefflichen Nährboden darstellenden Kokosendosperm sogleich jene üppige Vegetation ein, verbunden mit einer überaus kräftigen Ketonbildung. Nähere Angaben hierzu gibt *Andés*[1]) in seinem unten zitierten Werke; er bemerkt ganz richtig: „Die Hydrolyse und darauffolgende Zersetzung des Fettes in der Kopra wird vermutlich durch Pilze (hauptsächlich Aspergilli) herbeigeführt, indem entweder einer allein oder in Gemeinschaft mit verschiedenen Bakterien wirkt."

Dank der Fettlöslichkeit und der relativ hohen Siedepunkte (150 bis 260°) bleiben diese Stoffe mit großer Hartnäckigkeit im Kokosöl und erteilen ihm den disqualifizierenden „ranzigen" Geruch. Daß es sich hier also keineswegs um die eigentliche Ranzidität handelt, dürfte allein durch diesen Versuch festgelegt sein; wir sprechen künftighin zur größeren Präzisierung in diesem speziellen Falle von „*Ketonranzidität*" im Gegensatz zur allgemeinen oder „*Aldehydranzidität*" der Fette, welche einzig und allein abhängig ist vom Gehalt an *Ölsäure* und dem Grade der Oxydation derselben (Kreistest).

Mykologische Untersuchung einer ketonhaltigen Kokosfett-Wasser-Eiweiß-(Gelatine-) Mischung.

Die auf S. 382 erwähnte mykologische Analyse der Probe 6 (Tab. II) und Flasche mit Fett-Wasser-Gelatinemischung ergab folgenden Befund[2]):

[1]) *Andés*, Kokosbutter und andere Kunstspeisefette. Wien, Hartleben, 1907. — [2]) Nachfolgende mykologische Analyse wurde von Herrn *O. Acklin*, Assistent am hyg.-bakt. Institut der E. T. H. ausgeführt und mir in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt. Ich benutze diese Gelegenheit, ihm für sein reges Interesse, das er für den weiteren Verlauf meiner Arbeit zeigte, sowie für die Ratschläge, die er mir besonders auf mykologisch-technischem Gebiete zuteil werden ließ, meinen speziellen Dank auszusprechen.

Als Nährboden wurde eine Mischung von 200 g Kokosfett, 150 g Wasser und 4 g Gelatine[1]) verwendet, entsprechend einer ungefähren Zusammensetzung dieser Komponenten in der Kokosnuß.

Sterilisierung des Nährbodens. Obige Mischung wurde während 40 Minuten im Autoklav bei 108° sterilisiert. Beimpfung dieses Materials mit verschimmelten Fett-Wasser-Eiweißresten aus der Flasche zeitigte keinen Erfolg. (Wir werden auf den Grund dieser Erscheinung später zurückkommen.) Schonendere Sterilisation bei 105° während 10 Minuten ergab bei der Impfung des Nährbodens in Röhrchen nach 10 Tagen Ketongeruch, untermischt mit Ammoniak, und bei länger dauernder Beobachtung auch Fettsäuren- und Seifengeruch.

Zur *Isolierung der Keime* im Ausgangsmaterial wurde letzteres unter Berücksichtigung des Schimmelpilzes auf Maltoseagar (2 Proz. Maltose, 1 Proz. Pepton, 1,5 Proz. Agar) verimpft. Es gingen an: ein *Penicillium glaucum* und drei verschiedenartige *Bakterien*; letztere erwiesen sich, wie nähere Untersuchungen zeigten, als völlig indifferent. Wir verzichten daher auf nähere Beschreibung. Dagegen vermochte das isolierte *Penicillium glaucum allein die bekannten Farb- und Geruchsveränderungen herbeizuführen.*

Prüfung anderer Schimmelpilze. Die gleiche Wirkung wie obiges *Penicillium glaucum* zeigte ein solches aus der Schimmelpilzsammlung des Instituts.

Ebenso ergab ein *Aspergillus niger* schon nach 4 Tagen Ketongeruch, während ein spärlich wachsender *Aspergillus fumigatus* denselben erst in 20 Tagen zeigte.

Ein von mir später verimpftes *Oidium lactis* vermochte *nicht* Ketone zu bilden, doch trat ein säuerlicher, an gebrochene saure Milch erinnernder Geruch auf.

Saccharomyces cerevisiae ergab ebenfalls negatives Resultat; ebenso zeigte ein ab fauler Kokosnuß abgeimpfter *Mucor* nicht die Fähigkeit, Ketone zu bilden.

Späterhin verwendete ich immer *Reinkulturen von Penicillium glaucum.* Dazu wurden drei Stämme:

I. aus Fett-Gelatine-Wassermischung,
II. ab Emmentaler Käse,
III. ab geraspelter Kokosnuß

isoliert. Als *Nährboden* zur Erzielung eines sporenreichen, kräftigen Wachstums eignete sich der oben angeführte *Pepton-Maltoseagar*; nach 3 bis 4 Tagen war die Oberfläche jeweils mit einem dichten grünen Rasen überzogen. Zur Beimpfung verwendete ich in der Regel 4 bis 6 Tage altes Material.

Die Dakinsche Synthese im Stoffwechsel des Penicillium glaucum.

Durch die Tatsache, daß ohne Stickstoffsubstanzen keine Ketonbildung zu beobachten war (s. oben), dürfte die vitale Bildung derselben im Fett der Kokosnuß durch die *Dakin*sche Synthese eine Erklärung gefunden haben.

Da sich herausgestellt hat, daß *Penicillium glaucum* für die Ketonbildung verantwortlich gemacht werden darf, so müssen daraufhin

[1]) Neben Hühnereiweiß wurde als Stickstoffquelle mit dem gleichen Erfolg auch Gelatine verwendet.

im Biochemismus des Penicilliums folgende Eigenschaften zur Auswirkung gelangen:

1. eine fettspaltende (lipolytische),
2. eine eiweißabbauende (proteo-peptolytische); Ammoniakbildung!,
3. eine solche oxydativer Natur.

In Anbetracht der zahlreichen hierüber bereits bestehenden Erfahrungen hielt ich es für zweckmäßig, meinerseits nicht weiter auf diese Fragen experimentell einzugehen, und beschränkte mich daher auf die nachfolgenden kurzen Angaben aus der entsprechenden Literatur:

1. *Über fettspaltende (lipolytische) Eigenschaften*: *Camus*[1]) wies im Penicillium glaucum ein lipolytisches Enzym gegen Butterfett nach. Zu denselben Ergebnissen unter gleichen Bedingungen kamen u. a. *Laxa*[2]) und *Gérard*[3]), außerdem *Camus* (l. c.) für den Aspergillus niger.

Spieckermann[4]) zeigt, daß im Gegensatz zu *Schmid* die Triglyceride nicht als Emulsion, sondern in Glycerin und Fettsäure gespalten in die Zelle aufgenommen werden. Hieraus schließt *Hanuš*[5]), daß die Schimmelpilze während ihrer Entwicklung die Lipolyse auszuführen gezwungen sind, um Glycerin in ihren Stoffwechsel einbeziehen zu können. Nach *Rahn*[6]) besitzt Penicillium glaucum ebenfalls stark fettspaltende Eigenschaften.

Schließlich sei noch auf die Arbeit von *Duclaux*[7]) und die durch den *Kreistest* festgelegten Resultate, von denen bereits in der Einleitung die Rede war, verwiesen.

2. *Über NH_3-bildende, eiweißabbauende Eigenschaften*: *Wehmer*[8]) fand in Zuchten von Aspergillus niger in Peptonlösungen reichliche Bildung von Ammoniak.

Butkewitsch[9]) stellte analoge Versuche mit Penicillium glaucum und Aspergillus an und kam zu demselben Resultat.

Wöltje[10]) zeigte mit Penicillium glaucum in Milch, daß aus einem Manko an Stickstoff am Schluß des Versuchs bei alkalischer Reaktion auf NH_3-Bildung zu schließen ist.

Untersuchungen *Weigmanns* (s. *Lafar*, **2**) ergaben ebenfalls Ammoniak bei Zersetzung von Milch durch Schimmelpilze.

Am beweiskräftigsten dürften die von *Kossowicz*[11]) mit elf verschiedenen Schimmelpilzstämmen unternommenen Untersuchungen sein, worunter auch Penicillium glaucum. Er fand, daß *Glykokoll* als alleinige Kohlenstoff-Stickstoffquelle unter NH_3-Abspaltung ausgenutzt werden kann.

---

[1]) *Camus*, C. r. d. Soc. de Biol. **49**, 192.
[2]) *Laxa*, Arch. f. Hyg. **41**, 127.
[3]) *Gérard*, C. r. **124**, 370.
[4]) *Spieckermann*, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. **23**, 305.
[5]) *Hanuš*, ebendaselbst 1900, S. 606.
[6]) *Rahn*, Centralbl. f. Bakt., II, **15**, 422.
[7]) *Duclaux*, Le lait. Paris 1887.
[8]) *Wehmer*, Chem.-Ztg. **19**, 2088, 1895.
[9]) *Butkewitsch*, Jahrb. f. wiss. Bot. **38**, 147.
[10]) *Wöltje*, Inaug.-Diss. Göttingen 1918.
[11]) *Kossowicz*, Zeitschr. f. Gärungsphysiologie **2**, 51 und 81 1912; Referate: Zeitschr. f. Bakt. II, **37**, 276.

Es sei hier noch kurz eine *experimentelle Bestätigung* der *Kossowicz*schen Resultate angeführt. Die Technik des Versuchs ist aus Tabelle III ersichtlich.

4. Versuch (Tab. III).

Die Beimpfung der Kokosfett-Glykokoll-Wassernährböden erfolgte durch Aufstreuen von reinem Sporenmaterial.

Tabelle III.

Angesetzt 18. XII.		33 Kokosfett 62 Wasser 5 Glykokoll		35 Kokosfett 64 Wasser 1 Glykokoll		35 Kokosfett 65 Wasser 0,1 Glykokoll	
20. XII.	W	—	—	—	—	—	—
	G	—	(±)	—	—	—	—
22. XII.	W	—	—	—	—	—	—
	G	?	+	—	±	±	±
	F	—	—	—	—	(1 Kol.)	—
24. XII.	W	—	—	—	—	+	—
	G	?	±	—	—	+	±
	F	—	—	—	—	(1 Kol.)	—
28. XII.	W	(1 Kol.)	—	—	—	(1 Kol.)	+
	Sp	„	—	—	—	+	—
	G	±	±	?	?	+	+
	F	—	—	—	—	+	—
3. I.	W	(1 Kol.)	—	—	—	(1 Kol.)	+
	Sp	+	—	—	—	+	—
	G	±	±	±	?	+	+
	F	—	—	—	—	—	—
8. I.	W	(1 Kol.)	+	±	—	+	+
	Sp	+	—	—	—	+	+
	G	±	±	±	±	++	+
	F	—	—	—	—	++	+
14. I.		nN	nN	nN	nN	nN	nN

Legende: W = Wachstum (makroskopisch sichtbar).
G = Geruch (Keton-).
F = Gelbfärbung des Nährbodens.
Sp = Sporenbildung.
— = kein sichtbares Wachstum,
± = spurenweises Wachstum,
+ = makroskopisch sichtbares Wachstum,
++ = kräftiges Wachstum,
nN = nichts Neues.
} analoge Bezeichnung für G, F und Sp.

Das *Resultat* des Versuchs läßt sich also dahin zusammenfassen, daß unter Anwendung von *Glykokoll als einzige Stickstoffquelle* ein, wenn auch

spärlicher, so doch eindeutig wahrnehmbarerer *Ketongeruch* zu konstatieren war.

Dadurch dürfte die obligate Rolle des Ammoniaks bewiesen sein.

Über den Chemismus der Ammoniakbildung aus Glykokoll (und Aminosäuren im allgemeinen) orientieren die interessanten Ausführungen von *Ehrlich* und *Jakobsen*[1]). Ihre Versuche mit Oidium lactis ergaben, daß in einem Glucose-Aminosäurenährboden schon nach 4 bis 5 Wochen von letzteren nichts mehr nachzuweisen war. Bei diesem Vorgang findet eine regelmäßige Desamidierung der als Stickstoffquelle gebotenen Aminosäure in dem Sinne statt, daß Wasser angelagert und *Ammoniak abgespalten* wird:

$$RCHNH_2COOH + H_2O \longrightarrow RCHOHCOOH + NH_3.$$

3. *Über oxydierende Eigenschaften. Herzog* und *Meier*[2]) berichten von einer biologischen Spaltungsmethode der Antipodengemische von Racematen (*Pasteur*), die auf einer *Oxydation durch Schimmelpilze* beruhe. Da die gleiche Wirkung durch getötete Pilze erzielt wurde, schlossen die Forscher auf Anwesenheit eines oxydierenden Ferments, einer *Oxydase in Penicillium glaucum.*

Einen interessanten „Nachweis feinerer Wachstumsvorgänge in *Schimmelpilzen*" lieferten *Plato* und *Guth*[3]). Unter Anwendung von Neutralrot als Indikator auf oxydierende Vorgänge entdeckten sie in den Endfäden von Penicillium brevicaule eine Reihe roter „Granula", die sie als *vitale Oxydationszentren* ansprachen.

In konsequenter Anwendung und sinngemäßer Ausführung der *Dakin*schen Synthese ging ich in den im folgenden beschriebenen Hauptversuchen dazu über, den Nachweis zu erbringen, daß durch oxydativen *Abbau der freien Fettsäuren*, deren *Ammonsalze* sowie deren *Triglyceride* zu Ketonen in ihren einzelnen Phasen durch den Stoffwechsel des Penicillium glaucum beherrscht wird, und daß somit die *Dakin*sche Synthese in vivo für den vorliegenden Fall in ihrem vollen Umfang als bewiesen gelten kann.

1. Über das chemische Verhalten von Penicillium glaucum auf Gelatinenährboden bei Zusatz von freien Fettsäuren.

Experimentelles (Nährboden: 90 Wasser, 10 Gelatine): Je 50 ccm dieser Mischung wurden 0,5 g (etwa 10 Tropfen) Fettsäure in Erlenmeyerkölbchen beigegeben und mit Wattepfropfen verschlossen während 10 Minuten im Autoklaven bei 108° sterilisiert. Es wurden pro Fettsäure zwei Versuchsplatten und eine sterile Platte (Kontrolle!) angesetzt. Temperatur 22°.

Beimpfung: Diese geschah durch 1 ccm der Sporenaufschwemmung einer 5 Tage alten Penicillium-Reinzucht (Stammkultur 1) pro Platte à 15 ccm Nährboden (s. Tabelle IV).

---

[1]) *Ehrlich* und *Jakobsen*, B. 44, 888.

[2]) *Herzog* und *Meier*, Zeitschr. f. Bakt. II, 27, 441.

[3]) *Plato* und *Guth*, Zeitschr. f. Hyg. 38, 319.

Tabelle IV.

Angesetzt 16. I.		Buttersäure	Capronsäure	Caprylsäure	Caprinsäure	Laurinsäure	Myristinsäure	Palmitinsäure	Stearinsäure	Oleinsäure
18. I.	W	—	—	—	—	+	—	—	—	—
	G	—	—	—	—	+	?	—	—	—
	F	—	—	—	—	±	—	—	—	—
23. I.	W	—	—	—	—	+	—	+ (Kol.)	+ (Kol.)	+
	Sp	—	—	—	—	—	—	+	+	+
	G	—	—	—	—	++	—	schg.	schg.	süß-säuerl.
	F	—	—	—	—	+	—	—	—	—
28. I.	W	—	—	—	—	+	—	+	+	+
	Sp	—	—	—	—	+	—	+	+	+
	G	—	—	—	—	++	—	schg.	schg.	süß-säuerl.
	F	—[1]	—[1]	—[1]	—[1]	+	—[1]	+	+	+
3. II.	W				±	+	± (Kol.)	+	+	+
	Sp	nN	nN	nN	—	+	—	+	+	+
	G				+	+ schg.	schg.	schg.	schg.	süß-säuerl.
	F				—!	+	—	+	+	+
7. II.	W				±	+				
	Sp	nN	nN	nN	+	+	nN	nN	nN	nN
	G				+	+ schg.				
	F				—	+				

[1]) Mit frischem Hyphenmaterial beimpft.
schg. = schimmliger Geruch.
Übrige Abkürzungen s. Legende Tabelle III.

Resultat: Aus Tabelle IV ist ersichtlich, daß nach 48 Stunden einzig die *Laurinsäure* ein makroskopisch sichtbares Wachstum zeigte. Gleichzeitig waren gelbe Flecken kolonieartig zu konstatieren. Der *Geruch* war, wenn auch ziemlich schwach, so doch deutlich und identisch mit dem aus dem ranzigen Kokosdestillat (Rusterholz) gewonnenen, *reinen Methylnonylketon.*

Bei der *Myristinsäureprobe* war kein Wachstum, wohl aber eine Veränderung des Geruchs gegenüber der sterilen Probe wahrzunehmen. Ich sprach es als *Methylundecylketon* *) an, doch war im weiteren Verlauf des Versuchs von einem ausgesprochenen Ketongeruch nichts mehr zu konstatieren.

---

*) *Herstellung des Methylundecylketons.* Laurinsäure wird in etwa 1 ½ Äquivalent Eisessig gelöst; diese Lösung wird unter Schütteln langsam zu einer CaO-Suspension, die ungefähr anderthalbmal soviel CaO enthält als zur Absättigung der beiden Säuren nötig ist, gebracht. Hierauf wird in Porzellanschale zur Trockne verdampft, getrocknet und die pulverisierten Ca-Seifen in schwer schmelzbarem, großem Reagenzglas unter Vakuum direkt in Vorlage trocken destilliert; dabei ist darauf zu achten, daß das sich trocken bildende Diundecylketon die Abzugsröhre nicht verstopft (Fpt. 69°). Durch Destillation des Rohproduktes können die gebildeten Ketone leicht getrennt werden. Das Methylundecylketon ist ein weißer Körper vom Fpt. 27—28°; es besitzt einen an Wiesenkerbel erinnernden Geruch.

Nach *weiteren 5 Tagen* zeigte die *Laurinsäureprobe* ein ziemlich kräftiges Mycel auf einem gelben Grunde. Der Geruch war eindeutig und intensiv der von Methylnonylketon.

Die Myristinsäureprobe wies sowohl kein Wachstum als auch keinen Ketongeruch auf; letzterer entsprach dem der sterilen Probe[1]).

Die Palmitin- und Stearinsäureproben waren mit einzelnen sporenreichen Kolonien bewachsen, was auf gehindertes Wachstum zurückzuführen sein dürfte.

Die Oleinsäureprobe war ziemlich gleichmäßig überwachsen und zeigte einen säuerlich-süßen (keinen Keton-) Geruch.

Nach *12 Tagen* seit Versuchsbeginn wurden Myristin-, Butter-, Capron-, Capryl- und Caprinsäure mit frischem Hyphenmaterial beimpft, mit dem Erfolg, daß nach 6 Tagen letztere neben mikroskopisch sichtbaren Hyphen deutlichen Geruch nach *Methylheptylketon* erkennen ließ.

Die Laurinsäureprobe ließ infolge der eingetretenen reichen Fructifikation neben dem Keton einen schwach schimmligen (schg.) Geruch erkennen, der bei den Palmitin- und Stearinsäureproben sehr stark vertreten war (Sporen!).

Es läßt sich also das *Resultat* dahin zusammenfassen, daß unter obigen Bedingungen *nur Caprin- und Laurinsäure* vom Penicillium glaucum *eindeutig*, Myristinsäure dagegen *nicht sicher* erkennbar im Sinne einer *Ketonbildung* abgebaut werden können.

Für das Ausbleiben des Wachstums bei Butter-, Capron- und Caprylsäure geben die Untersuchungen von *Spieckermann*[2]) die Erklärung, welche besagt, „daß von Penicillium glaucum Essigsäure in ziemlich starker Konzentration vertragen wird, daß dagegen von der Propionsäure an schon in schwachen Konzentrationen Entwicklungshemmungen eintreten, und daß die *Giftigkeit bis zur Fettsäure mit acht Kohlenstoffatomen* (Caprylsäure) *mit dem Molekulargewicht steigt*. Bei der *Pelargonsäure* ($C_9H_{18}O_2$) tritt bei damit gesättigten Nährlösungen weder Weiterentwicklung von Hyphen, noch Auskeimen von Sporen ein. Bei *Caprinsäure* ($C_{10}H_{20}O_2$) dagegen war wohl ersteres, nicht aber letzteres der Fall.

Zum gleichen Ergebnis kommt auch *Laxa* (l. c.); er gibt an, daß Penicillium bei 39 mg Capronsäure auf 100 ccm noch nicht, bei 24 mg sehr schwach wuchs, und daß bei ungefähr gleich konzentrierten Caprylsäurelösungen überhaupt kein Wachstum zu erzielen war.

---

[1]) Eine *Beurteilung der Ketonbildung* auf Grund der *Geruchsempfindung* allein kann als streng wissenschaftliches Kriterium nicht genügen. Dagegen ist der hier in Frage kommende Geruch so charakteristisch und ausgiebig, daß unter Umständen, selbst bei eindeutigem Auftreten desselben ein Nachweis auf chemischem Wege versagen kann. Dies bestätigte sich bei einem später zu beschreibenden Versuch mit Myristinsäure. Demzufolge habe ich nur diejenigen Geruchsbeobachtungen *eindeutig* als Ketone ausgewertet, bei welchen mir zugleich die *chemische Identifizierung* des Ketons einmal gelungen war.

[2]) *Spieckermann*, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. **23**, 305.

Es besteht nun die Tatsache, daß Fette durch Schimmelpilze (Penicillium) unter vorangehender Spaltung in Fettsäuren und Glycerin verzehrt werden. Aus den lipolytischen Eigenschaften ergibt sich aber die Möglichkeit einer Selbstvergiftung durch freiwerdende giftige Fettsäuren. Nach *Spieckermanns* Angaben ist es unwahrscheinlich, daß die lipolytischen Eigenschaften spezifisch auf die niedrigst- oder höchstmolekularen (ungiftigen!) Fettsäuren eingestellt sind. Er fand nämlich eine *Verminderung der Reichert-Meisslzahl* (der *höheren flüchtigen, giftigen* Fettsäuren!).

Auch *Bremer*[1]) sagt, daß Fadenpilze Fette, sowie *höhere flüssige* und feste Fettsäuren als Kohlenstoffquelle vorzüglich ausnutzen können. *Rahn*[2]) schließt sich an und berichtet: „Die Schimmelpilze scheinen die *niederen* Fettsäuren zu bevorzugen. Bei der Oxydation der Fettsäuren sind niemals Neben produkte beobachtet worden; die Oxydation scheint also vollständig zu sein."

Gemäß der *Dakin*schen Synthese glaube ich jetzt schon annehmen zu können, daß das aus der Kokosnuß (dritter Versuch) gewonnene *Methylamylketon* aus der *besonders giftigen Caprylsäure* hervorgegangen sein dürfte. Damit werden wir vor die Frage gestellt, wie sich trotz der Anwesenheit von giftiger Fettsäure ein intensives Pilzwachstum erklären läßt. Es bestehen folgende Möglichkeiten:

1. Es kann dem Pilz allenfalls die Fähigkeit zukommen, im gegebenen Moment durch Bildung eines sogenannten „*Ko-Ferments*" die lipolytische Wirkung aufzuhalten und fortan zu regulieren.

2. Ist dies nicht der Fall, würde die lipolytische Wirkung weitergehen bis zur Selbstvergiftung, so muß ihm eine Fähigkeit zukommen, die Säure in dem Maße, wie sie abgespalten wird, unschädlich zu machen.

Daß *ersteres* kaum in Frage kommen dürfte, beweisen die später aufgeführten Resultate mit reinen Triglyceriden.

Um die *zweite* Frage auf ihre Verifizierbarkeit zu prüfen, sei auf eine Beobachtung *Spieckermanns* (l. c.) hingewiesen, die besagt, daß Penicillium *nicht* auf *Na*- oder *K*-Seifen, wohl aber auf solchen, deren Alkalireste das Pilzwachstum nicht stark beeinflussen, wachsen kann; als solche gibt er an *Ca- oder* NH_4*-Seifen*, auf denen der Pilz, allerdings nicht so gut wie auf den entsprechenden Glyceriden, gedeiht.

Gesetzt den Fall, der Pilz ist in der Lage, *Ammoniak* in solchen Mengen *zu produzieren* (Calcium kommt für unseren Fall wohl kaum in Frage), daß die jeweils freiwerdenden *niederen Fettsäuren*, welche dank ihrer größeren Dissoziation in erster Linie in Betracht kommen, sofort zu den unschädlichen *Ammonseifen* neutralisiert werden, so ist dadurch eine *Selbstvergiftung* behoben und außerdem die Anwendbarkeit der *Dakin*schen Synthese für unseren Fall erneut bestätigt.

---

[1]) *Bremer*, Centralbl. f. Bakt., II, **10**, 156.
[2]) *Rahn*, ebendaselbst II, **15**, 53.

2. Über das chemische Verhalten von Penicillium glaucum auf fettsauren Ammonsalzen.

Experimentelles: Verschiedene Bedenken in bezug auf die Zusammensetzung des bisher verwendeten Nährbodens veranlaßten mich, neue, für die Ketonbildung günstigere Kombinationen der Nährkomponenten auszuprobieren. Es zeigte sich, daß bei Darreichung des Stickstoffs in Form von Gelatine die ketonbildenden Eigenschaften des Penicilliums nicht zur vollen Wirkung gelangen konnten.

Nach einer Reihe von in dieser Richtung unternommenen Versuchen erwies sich folgende Zusammensetzung als geeignet:

1000 Wasser, 15—20 Agar, 10 Pepton, 10 Glucose.

Es dürfte damit dem Pilz einmal der Stickstoff in bedeutend resorbierbarerer Form geboten sein; dann steht ihm in der Glucose eine vorteilhafte Energiequelle zur Verfügung.

Dieser Nährboden besitzt eine Reaktion, die einem p_H-Wert von 5,8 bis 6,0 und zugleich dem Wachstumsoptimum der Schimmelpilze entspricht. Die Existenz der Ammonsalze war durch den sauren Charakter dieses Nährbodens gefährdet. Um diese Spaltung der Ammonsalze zu verhindern, stellte ich durch Zusatz von Ammoniak die Nährböden auf die p_H-Werte von 7,2; 7,4; 7,6; 7,8 bis 8,2[1]), selbst auf die Gefahr hin, daß dem Pilz ein für sein Wachstum ungünstigeres Milieu geschaffen wurde.

Zum Verständnis der in den folgenden Tabellen aufgenommenen *Farbumschläge* der verwendeten Indikatoren sei erwähnt, daß *Bromthymolblau* (BTB — p_H 5,4 bis 7,8) die saure Phase gelb, die alkalische blau anzeigt. Der Neutralpunkt p_H 7,0 kann als Grüngelb angesprochen werden[2]).

Die in derartig hergestellten Nährböden gefundenen Resultate der

Versuche mit Ammoncaprylat

sind in der Tabelle V zusammengefaßt.

Tabelle V.

Wechselnde Mengen Ammoncaprylat in Glucose-Peptonagar.

Angesetzt 2. IV. 18h		1.	2.	3.	4.
		Pepton-Agar ohne Glucose 0,2 Caprylsäure (bläulich-grün) *) p_H 7,4—7,6	Glucose-Agar 0,2 Caprylsäure (gelblich-grün) p_H 7,2—7,4	Glucose-Agar 0,1 Caprylsäure (grün-blau) p_H 7,6—7,8	Glucose-Agar 0,05 Caprylsäure (grünlich-blau) p_H 7,6—8,0
3. IV. 12h	W	—	—	—	—
	G	+	—	±	++!
	F	grün	gelbgrün	grün	grün
4. IV. 9h	W	+	±	±	±
	G	±	?	+	+++
	F	grün u. gelb	gelbgrün	grün	bläulich-grün

*) Bromthymolblau als Indikator.

[1]) Die Methode der Einstellung von Nährböden nach p_H ist erst kürzlich im bakteriologischen Zentralblatt I, 91, 538 erschienen: *O. Acklin*, Über die Bestimmung der p_H-Werte in der bakteriologischen Technik.

[2]) Je nach Eigenfärbung des Nährbodens ändert sich selbstverständlich die Bezeichnungsweise der p_H-Werte nach Farbnuance.

Tabelle V. (Fortsetzung.)

Angesetzt 2. IV. 18h		1. Pepton-Agar ohne Glucose 0,2 Caprylsäure (bläulich-grün) *) p_H 7,4—7,6	2. Glucose-Agar 0,2 Caprylsäure (gelblich-grün) p_H 7,2—7,4	3. Glucose-Agar 0,1 Caprylsäure (grün-blau) p_H 7,6—7,8	4. Glucose-Agar 0,05 Caprylsäure (grünlich-blau) p_H 7,6—8,0
5. IV. 9h	W	+	±		
	Sp	+	—	nN	nN
	G	—	—		
	F	gelb	grüngelb		
7. IV. 9h	W	+		+	++
	Sp	++	nN	—	+
	G	schg.		++	±
	F	grüngelb		grüngelb	grün u. blau
8. IV. 9h	W	+		+	+
	Sp	++	nN	—	+
	G	int. schg.		+++	—
	F	grün		gelb	blau (u. gr.)
12. IV. 9h	W		—	+	+
	Sp	n N	—	+	++
	G		Caprylsäure!	schg.	schg.
	F		gelb	blaugrün	blau

*) Bromthymolblau als Indikator.

Resultate: Sowohl die Peptonagar- mit maximalem, als auch die Glucoseagarprobe mit minimalem Ammoncaprylatgehalt zeigten nach 18 Stunden deutlichen, letztere sogar intensiven Ketongeruch, während Probe 3 eine Spur davon und Probe 2 gar keine Veränderung erkennen ließ. Überdies ließ sich bei ersteren zwei *Proben* (1 und 4) ein Parallelismus insofern erblicken, als ungefähr beim *Eintritt der Fructifikation der Ketongeruch verschwand*, um einem nachfolgenden, mit Überhandnehmen der Sporenbildung anwachsenden *Schimmelgeruch* Platz zu machen. *Probe 3* zeigte die gleiche Erscheinung, nur zeitlich verschoben, während Probe 2 nie eindeutig Ketongeruch aufwies.

Die ketonpositiven Platten waren a priori etwas stärker alkalisch als die versagende Probe 2. Ich glaube daraus schließen zu können, daß der Pilz in seinem ersten Lebensstadium das im Überschuß, wie auch an Fettsäure gebunden vorhandene Ammoniak zum Aufbau von arteigenem Eiweiß verwendet. Ist also nach meinem Dafürhalten ein genügend großer Ammoniaküberschuß vorhanden, um den Pilz auf jene Entwicklungsstufe zu bringen, wo dank seiner Ammoniakproduktion durch Abbau der Proteinsubstanzen (Pepton) die Gefahr der Selbstvergiftung nicht mehr besteht, so ist der Boden zu einer Ketonbildung geschaffen. Aus naheliegenden Gründen muß sich der NH_3-Überschuß innerhalb der für die Ketonbildung optimalen Breite der p_H-Werte bewegen. Unter diesen Gesichtspunkten läßt sich der negative Fall 2 ungefähr so erklären, daß für das nach 2 Tagen eingetretene, spurenweise Wachstum der geringe Überschuß an Ammoniak (7,2 bis 7,4!) und nach weiteren 24 Stunden ein Teil des an Caprylsäure gebundenen Ammoniaks (Gelbfärbung!) vom Pilz benötigt und letztere dadurch in Freiheit gesetzt wurde (Selbstvergiftung!).

Versuche mit Capronsäure,
die in Tabelle VI festgelegt sind, führten zum selben Ergebnis.

Tabelle VI.

Ammoncapronat in verschieden ammoniakalischem Glucose-Peptonagar.
Nährboden: 10 Glucoseagar, 3 bis 4 Tropfen Capronsäure + (Ammoniak).

		p_H 7,2—7,4 grün	p_H 7,6—7,8 grünlich-blau	p_H etwa 8 blau
Nach 24 Std. . . .	W	±	—	—
	G	+	+	±
	F	gelbgrün	grünblau	blau
Nach 40 Std. . . .	W	+	+	±
	G	Capronsäure	++	++
	F	gelb	grün	blau u. grün
Nach 62 Std. . . .	W	—	+	+
	Sp	—	+	+
	G	Capronsäure!	+	++
	F	gelb	gelbgrün	grün
Nach 90 Std. . . .	W	+ (Kol.)	+	+
	Sp	—	+	+
	G	Capronsäure	—	±
	F	gelb[1])	blau u. grün	grün

[1]) Um die gebildeten Kolonien herum leichter grüner Hof (Indik!).

Resultate: 1. Wir sehen, daß bei einem p_H-*Wert von 7,2 bis 7,4* (grün) nach 24 Stunden makroskopisch spurenweise ein Wachstum und ebenso deutlich der Ketongeruch auftritt. Die Färbung ist gelb-grün. Nach 40 Stunden ist deutliches Wachstum eingetreten, der Ketongeruch ist verschwunden, dafür macht sich ein schwacher Geruch nach Capronsäure bemerkbar; der Nährboden ist gelb gefärbt. Nach 62 Stunden sind keine Veränderungen festzustellen. Nach 90 Stunden ist stellenweise ein weißes Mycel zu beobachten, Keton- nicht, wohl aber Capronsäuregeruch. Die Färbung des Nährbodens ist gelb; um das neugebildete Mycel herum treten grüne Höfe auf (Indikator!).

2. Bei einem p_H-*Wert von 7,6 bis 7,8* (grünlich-blau) beobachten wir nach 24 Stunden kein Wachstum, kräftigen Geruch nach Keton und grünblaue Färbung des Nährbodens. Nach 40 Stunden ist deutliches Wachstum und intensiver Ketongeruch zu konstatieren. Die Färbung des Nährbodens ist grün. Nach 62 Stunden ist Wachstum unter Sporenbildung fortgeschritten, Ketongeruch hat nachgelassen, Farbumschlag in gelbgrün. Nach 90 Stunden fortgeschrittenes Wachstum und Sporenbildung, *Ketongeruch verschwunden*; Nährboden fleckenweise blau und grün gefärbt.

3. Bei einem p_H-*Wert von etwa 8* (blau) ist nach 24 Stunden makroskopisch kein Wachstum, dagegen deutlicher Ketongeruch und keine Farbveränderung des Nährbodens zu konstatieren. Nach 40 Stunden ist bei schwachem Wachstum ein kräftiger Ketongeruch bei blaugrünem Nährboden wahrzunehmen. Nach 62 Stunden beginnende Sporenbildung, Ketongeruch konstant, während Nährboden grün gefärbt erscheint. Nach 90 Stunden ist bei gleichgebliebenen anderen Verhältnissen der Ketongeruch nahezu verschwunden.

Die *ursächlichen Beziehungen*, die zwischen der Reaktion des Nährbodens, der Intensität des Schimmelpilzwachstums und der Ketonbildung aus der obigen Versuchsreihe deutlich hervorgehen, scheinen mir für das Verständnis der Ketonbildung von außerordentlicher Bedeutung zu sein, so daß ich im folgenden dazu übergehe, meine Anschauungen hierüber auf etwas breiterer Basis zu erörtern und zu begründen.

1. Nach 24 Stunden. Der geringe Ammoniaküberschuß wird zur Bildung einer diesem entsprechenden Menge Keton und zur Vermehrung des Pilzes verbraucht, was einer *Verminderung der Alkalinität* entspricht (gelbgrüne Färbung des Nährbodens).

Nach 40stündigem Wachstum ist die geringe Menge des anfänglich vorhandenen überschüssigen Ammoniaks verbraucht worden; in dieser Phase fand daher ein entsprechend intensiveres Wachstum statt, wobei daran erinnert sei, daß das optimale Wachstum für Schimmelpilze bei etwa p_H 6,0 liegt. Die dadurch in Freiheit gesetzte *Capronsäure* (Gelbfärbung!) *hemmt* aber *das Weiterwachstum* des Pilzes (Selbstvergiftung durch Capronsäure).

Nach 62 Stunden finden wir die Prognose durch die stattgehabte *Stagnation* bestätigt.

Nach weiteren 28 Stunden (90stündige Etappe) dokumentiert der Pilz durch seine stellenweise *Neubildung des Mycels* und entsprechende *Ammoniakproduktion* aus dem Pepton des Nährbodens die Überwindung seiner Stagnationsperiode. Die geringen Mengen der dadurch aufs neue entstandenen Ammonsalze bzw. Ketone werden durch den Geruch der daneben noch freien Capronsäure verdeckt.

2. Nach 24 Stunden liegt keine nennenswerte Pilzvermehrung vor; der Nährboden hat sich dementsprechend in seinem p_H-Wert nur wenig verändert (grünblau). *Ketonbildung* ist vorhanden. Diese erklärt sich aus dem Vorrat an *freiem Ammoniak*, der dem Pilz eine *präsente Stickstoffquelle* darstellt und ihn vor der Fettsäurevergiftung bewahrt. Diese Verhältnisse gewähren dem Pilz weiterhin günstige Lebensbedingungen für eine ausgiebige Ketonproduktion.

Nach 40 Stunden beobachten wir denn auch ein gutes Wachstum unter *intensiver Ketonbildung.* Der Entzug von Ammoniak zur vermehrten Bildung des Ketons manifestiert sich in einem weiteren *Sinken des p_H-Wertes* (Grünfärbung).

Nach 62 Stunden dürften weiterhin keine wesentlichen Mengen von Keton mehr gebildet worden sein, was sich in einem *Nachlassen des Geruchs* anzeigt. Die gelbgrüne Färbung zeigt noch geringe Mengen von freiem Ammoniak an, welcher seinerseits wiederum den Prozeß der Ketonbildung weiterdauern läßt. Der p_H-Wert bewegt sich zwischen 7,0 bis 7,2.

Nach 90 Stunden ist ein *Ansteigen der Alkalinität* zu beobachten (blaugrüne Flecken), was nur auf erneute *Bildung von Ammoniak* zurückzuführen sein dürfte. Dieser kann nunmehr (mangels einer anderen Stickstoffquelle) nur durch *Abbau des Peptons* im Nährboden entstanden sein. Der *Ketongeruch ist verschwunden,* was unter den vorhandenen Bedingungen auf *restlose Oxydation der Fettsäuren* schließen läßt.

3. Der mit einem p_H-*Wert von etwa* 8 eingestellte Versuch läßt im wesentlichen denselben Ablauf wie die Versuchsreihe 2 erkennen.

Durch die anfänglich höhere Alkalinität als in der vorigen Versuchsreihe ist in der *ersten Phase* ein etwas gehemmtes Wachstum und damit verbunden

eine etwas geringere Ketonbildung bedingt. Die *späteren Phasen* der Beobachtung stimmen mit den entsprechend vorhergehenden der Versuchsreihe 2 überein.

Sämtliche Proben der Versuchsreihen 1, 2, und 3 wurden nach Abbruch des Versuchs mit HCl angesäuert und ergaben:

1. Starker Geruch nach Capronsäure
2. Kein „ „ „
3. „ „ „ „

Darin dürfte die Bestätigung für die oben gemachte Annahme liegen, daß unter den biochemischen *Bedingungen*, wie solche vornehmlich im *Versuch 2* vorgelegen haben, der *oxydative Abbau der Fettsäuren über die Ketonstufe restlos erfolgt.*


Graphische Darstellung des Versuchs 2 (Tabelle VI).

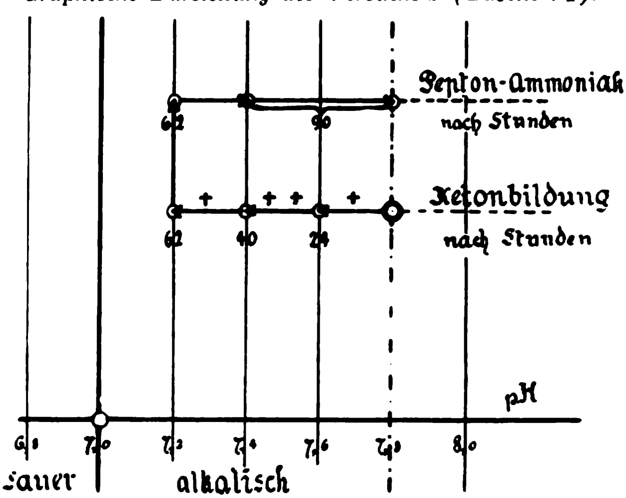


Abb. 1. Wie aus Tabelle VI ersichtlich, wurde Versuch 2 mit einem p_H-Wert von etwa 7,8 (grünlichblaue Zone) angesetzt. Die —·—·— senkrechte Linie durch p_H *7,8* zeigt also den Reaktionszustand zu Beginn des Versuches an. Nach *24 Stunden* tritt unter *Ketonbildung* (+) Verschiebung des p_H-Wertes auf etwa p_H *7,6* ein (grünblaue Zone). Nach *40 Stunden* stehen wir unter *intensiver* (++) *Ketonbildung* in der Gegend von p_H *7,4* (grün). Nach *62 Stunden* ist der *Ketongeruch* stark im *Abnehmen* begriffen (Fettsäure beinahe abgebaut!); das Ammoniak ist nahezu aufgebraucht, entsprechend p_H-*Wert 7,0 bis 7,2.* Es beginnt die Phase der *Ammoniakproduktion des Pilzes* aus dem *Pepton* des Nährbodens (obere Pfeilrichtung!). Nach *90 Stunden* macht sich diese bemerkbar durch partielle Blau- und Grünfärbung des Nährbodens, was einem p_H-*Bereich* von *7,4 bis 7,8* entspricht (*Ketongeruch verschwunden!*).

Versuche mit Buttersäure.

Sowohl in biochemischer als auch in technischer Hinsicht mußte das Problem, aus Buttersäure unter Einwirkung von Schimmelpilzen Aceton zu erhalten, ganz besonders interessieren.

Meine in dieser Richtung unternommenen Versuche basierten auf den im vorangegangenen Abschnitt zusammengefaßten Erfahrungen mit Ammoncapron- bzw. caprylat.

Experimentelles: Wiederum wurden Glucose-Peptonagar-Platten mit einem Buttersäuregehalt von 0,15 bis 0,2 g pro 10 ccm und bei einem

p_H-Wert von 7,6 bis 8,0 gegossen und mit Penicillium glaucum beimpft. Da vorauszusehen war, daß eine Ketonbildung in Anbetracht des im Vergleich zu den höheren Ketonen wenig charakteristischen und wenig ausgiebigen Acetongeruchs schwerlich geruchlich feststellbar sein werde, setzte ich, gleichsam als Gradmesser des Fortganges der Ketonbildung (und zugleich als Kontrolle über Nährboden, Pilz usw.) jeweils 2 bis 3 Platten mit Ammoncaprylat unter gleichen Bedingungen an.

Resultat: Die mykologischen Verhältnisse entsprachen denjenigen der vorangegangenen Versuche; bei den wenig ammoniakalischen Proben (p_H 7,2 bis 7,3) trat nach 24 Stunden Gelbfärbung und darauf folgend vorübergehende Selbstvergiftung ein. Erst nach einigen Tagen setzten sich jeweils einzelne Kolonien vornehmlich am Glasrand der Schalen (Alkali!) fest und verbreiteten sich mühsam über die Oberfläche. Die stärker ammoniakalischen Proben (7,6 bis 8,0) verhielten sich in mykologischer Hinsicht identisch mit den entsprechenden Kontrollproben mit Ammoncaprylat, doch war ein *Acetongeruch nie geruchlich feststellbar*. (Über das *chemische Verhalten* dieser Proben siehe später im Abschnitt über den qualitativ chemischen Nachweis der Methylketone.)

Versuche mit Caprinsäure

zeitigten dieselben Ergebnisse wie Capryl- und Capronsäure. Die geringere Löslichkeit des Ammoncaprinats macht sich bei Zusatz größerer Mengen bereits bemerkbar durch Trübung des sonst durchscheinenden Glucosenährbodens. Um einen allzu großen Überschuß zu vermeiden, setzte ich pro 10 ccm Glucoseagar 0,04 g Caprinsäure zu und stellte mittels Ammoniak einige Platten auf die p_H-Werte von 7,0 bis 7,8 ein.

Nach *24 bis 40 Stunden* war auf allen Platten deutlicher *Ketongeruch* wahrnehmbar. Ebenso verhielt sich ein

Versuch mit Laurinsäure.

War es schon mit der *freien Säure* möglich, Ketone zu erhalten, so konnte der positive Ausfall dieser Versuche keineswegs überraschen. Auch hier war wiederum nach 24 bis 40 Stunden das *Auftreten des Ketongeruchs* bemerkbar; eine Platte mit vermutlich zu hoher Alkalinität (p_H 8,0 bis 8,4) ließ weder Wachstum noch Ketonbildung aufkommen. Das Wachstum war spärlich, auf einigen Platten kolonieartig verteilt, was auf gehemmte Entwicklung hinweisen dürfte.

Versuche mit Myristinsäure.

Es wurden folgende vier Doppelproben angesetzt:

Tabelle VII.

Angesetzt 23. III.		0,02 Ammonmyristat p_H 7,2—7,4	0,02 Ammonmyristat p_H 7,2—7,4	0,05 Ammonmyristat p_H 7,4—7,6	0,1 Ammonmyristat p_H 7,4—7,6
24. III.	W	+	+	±	±
	G	—	—	—	?
25. III.	W	+	+	±	±
	G	schg.	schg.	?	?
27. III.	W	+	+	+	—
	Sp	+	+	—	—
	G	schg.	schg.	—	?

Resultat: In *mykologischer Hinsicht* bietet diese Versuchsreihe wenig Neues; was die geruchlich wahrnehmbare *Ketonbildung* anbetrifft, so erlauben die gemachten Beobachtungen noch keinen Schluß. Während bei den ersten drei Proben der schimmlige Geruch unvermittelt nach 2 Tagen eintrat, war bei der letzten Probe ein an *Methylundecylketon erinnernder* Geruch zu konstatieren, der aber keineswegs überzeugend war.

Ich setzte daher unter mir für den Schimmelpilz besonders günstig scheinenden Bedingungen zur Ketonbildung, *die folgende Versuchsreihe* an, wobei ich von der praktischen Erfahrung ausging, daß die *Bierwürze* ein für Hefe und Schimmelpilze ausgezeichnetes Nährmittel darstellt.

Fünf große Petrischalen wurden mit einem Nährboden, dem zu der bisher verwendeten Glucose-Peptonkombination zur Hälfte Bierwürze und 0,2 g Myristinsäure zugesetzt waren, begossen. Reaktion p_H 7,2 bis 7,8.

Gleichzeitig als *Parallelversuch* wurde unter den *bisherigen Bedingungen* eine Versuchsreihe von Platten mit je 0,2 g Myristinsäure angesetzt. Reaktion p_H 7,2 bis 7,8.

Beimpft wurden die Platten durch eine 6 Tage alte Kultur von Penicillium II (s. S. 385).

Resultat: Nach *24 Stunden* konnte auf drei Platten Glucose-Peptonagar und auf zwei Platten Bierwürzeagar *deutlich der Geruch nach Methylundecylketon* wahrgenommen werden. Ein Schimmelpilzwachstum war nur spurenweise zu konstatieren.

Nach *weiteren 24 Stunden* war deutliche Vermehrung von Wachstum und Ketongeruch eingetreten. Überdies zeigte eine weitere Bierwürzeagarplatte dieselben Erscheinungen.

Es schien mir angezeigt, das *geruchlich* wahrnehmbare Keton auch auf *chemischem* Wege nachzuweisen zu versuchen, weshalb ich die Ketonproben dieses Versuchs zu der weiter unten angeführten chemischen Untersuchung verwendete. Das Resultat derselben fiel leider *negativ* aus; ebenso zeitigten eine Großzahl früherer Versuche mit Myristinsäure fast durchweg zweifelhafte Resultate.

Wenn mir auch der Nachweis des Methylundecylketons in den *technischen Kokosöldestillaten* nicht gelang (s. S. 376), so berichten andererseits *Haller* und *Lassieur* von einer auch nur *sehr geringen* Ausbeute. Diese Tatsachen sowohl, als auch die bisher gefundenen Resultate mit Myristinsäure scheinen in ihrer Gesamtheit für eine *Hemmung biologischer Natur* in bezug auf Ketonabbau der Fettsäuren zu sprechen. Vor allem dürften hier die *Löslichkeitsverhältnisse* der Ammonseifen eine wesentliche Rolle spielen. In einer Arbeit über den „Abbau der Fettsäuren" berichtet *Spieckermann*[1]) unter anderem, daß die Löslichkeit der Seifen mit steigendem Molekulargewicht abnimmt, und gibt für *Natriummyristat* eine etwa *zehnmal kleinere Löslichkeit* in n/30 Natronlauge als *Natriumlaurat* an. Daß die Verhältnisse für die Ammonseifen ähnlich liegen, zeigen die meinerseits mit Caprinsäure schon beobachteten Ausscheidungen der Seife (s. oben). Außerdem dürfte für die geringe Ketonbildung zweifellos noch ein für den

---

[1]) *Spieckermann*, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. 27, 83.

oxydativen Abbau der Myristinsäure mehr oder weniger *spezifisches Nährmilieu* verantwortlich gemacht werden.

Leider war es mir nicht möglich, meine Untersuchungen auch in dieser Richtung weiter auszudehnen.

Versuche mit Palmitin- und Stearinsäure

schienen mir auf Grund der eben angeführten Tatsachen wenig erfolgreich. Die im ersten Hauptversuch (Tabelle IV) und einigen nachfolgenden Parallelversuchen angesetzten Palmitin- und Stearinsäureproben verhielten sich denn auch indifferent und zeigten nach 2 bis 3 Tagen nur den bekannten Schimmelgeruch. Ich unterzog diese beiden Säuren daher keinem weiteren Studium.

3. Der qualitativ chemische Nachweis der durch Penicillium glaucum gebildeten Methylketone.

Experimentelles: 15 bis 20 Petrischalen wurden mit je 10 ccm nachfolgender Mischung begossen: 10 ccm Glucose-Peptonagar, 3 bis 4 Tropfen Fettsäure („*Kahlbaum*"), 5 Tropfen alkoholischer Bromthymolblaulösung (0,04 proz.) mit Ammoniak auf die p_H-Werte 7,6 bis 8,0 eingestellt.

Die *Beimpfung* erfolgte so, daß mittels ausgeglühter Platinöse einer auf Maltoseagar gezüchteten (etwa 5 Tage alten) Reinkultur von Penicillium glaucum Sporen-Hyphenmaterial entnommen und auf die zu beimpfenden Platten übertragen wurde. Unter Zufügen von 3 bis 5 Tropfen sterilen Wassers pro Platte wurde das Impfmaterial mittels eines rechtwinklig abgebogenen Glasstabes (Spatel nach *Drigalsky*) auf der Agaroberfläche verstrichen.

Die *Bebrütungstemperatur* entsprach dem Optimum für Schimmelpilze (22°).

Abdestillieren der Ketone. Die zur Aufarbeitung bestimmten Proben wurden in einen Rundkolben entleert und mit Wasserdampf abgeblasen. Für leichtflüchtige Ketone (Aceton, Methylpropyl- und -butylketon) genügen zur restlosen Gewinnung einige Kubikzentimeter Destillat.

Die *Identifizierung* des im Destillat enthaltenen *Ketons* geschieht entweder:

a) *Für höhere Ketone* (Methylamylketon, Methylhexylketon, Methylheptylketon, Methylnonylketon, Methylundecylketon) durch Ausäthern des Wasserdampfdestillats, Trocknen des Äthers mit wasserfreiem Na-Sulfat, Abdestillieren des Äthers und *Nachweis des Ketons als Semicarbazon.* [Mischprobe[1]) mit synthetischen Semicarbazonen!]. Dies geschieht durch Zusatz von konzentrierter wässerig-alkoholischer Kaliumacetat-Semicarbazid-HCl-Lösung; nach einigen Stunden Stehenlassens wird mit Wasser verdünnt, Niederschlag abgenutscht, mit wenig Wasser ausgewaschen und aus Alkohol oder Essigester umkristallisiert.

b) *Für niedere, äther- und wasserlösliche Ketone* (Aceton, Methyläthylketon, Methylpropylketon, Methylbutylketon) durch Versetzen des mit HCl neutralisierten Wasserdampfdestillats mit einer konzentrierten, wässe-

---

[1]) Die geringen Mengen der erhaltenen Derivate erlaubten mir leider nicht, dieselben durch Elementaranalyse zu identifizieren. Ich benutzte daher Mischproben mit entsprechenden Derivaten der erwarteten Ketone.

rigen, frisch bereiteten Lösung von *p-Nitrophenylhydrazin-HCl.* Nach etwa 5 bis 10 Minuten wird das gebildete *p-Nitrophenylhydrazon* abfiltriert und aus Ligroin (+ Spur Benzol) umkristallisiert[1]). (Mischprobe mit bekannten Phenylhydrazonen!)

1. Buttersäure ⟶ Aceton.

Mit einem Versuchsmaterial von 18 Platten à 10 ccm Nährsubstrat + je 0,2 g Buttersäure wurde der Ketonnachweis durchgeführt.

Das Reaktionsprodukt mit p-Nitrophenylhydrazin erzeugte eine *leichte Opaleszenz.* Ein blinder Versuch (1 Tropfen Aceton auf 1 Liter Wasser) zeitigte einen *gelben, flockig kristallinen Niederschlag* von Aceton-p-Nitrophenylhydrazon.

Der *Nachweis* des aus der Buttersäure zu erwartenden Acetons ist demnach *negativ* ausgefallen.

So unerklärlich anfangs dieses Resultat auch scheinen muß, so verständlich dürfte es unter Berücksichtigung der für den Schimmelpilz bestehenden Lebenseigentümlichkeiten werden. Es ist nicht von der Hand zu weisen, daß Aceton in statu nascendi weiter oxydiert wird zu Essigsäure, CO_2 und H_2O, wodurch es einem Nachweis entgeht. Angenommen, das Aceton entsteht wirklich, so dürfen wir auch seine spezifische Giftigkeit[2]) gegen lebendes Eiweiß nicht außer acht lassen; insbesondere, wo dessen Bildung intrazellulär erfolgen und somit jegliche Acetonbildung einer Zellvermehrung Einhalt gebieten müßte.

Bedeutungsvoller erscheint mir dagegen der Umstand zu sein, daß die gegebenen Lebensbedingungen des Schimmelpilzes den zur Ketonbildung nötigen energetischen Anforderungen nicht genügen. Ich glaube daher, daß es nicht ausgeschlossen ist, daß das Penicillium glaucum in einem hierzu spezifisch zusammengesetzten Nährsubstrat die ketonbildende Fähigkeit auch Buttersäure gegenüber äußern wird.

2. Capronsäure ⟶ Methyl-n-propylketon.

Versuchsbedingungen: Dieselben wie bei Buttersäure.

Nachweis: Das Destillat wurde neutralisiert, mit einer frisch bereiteten, filtrierten Lösung von etwa 0,5 g p-Nitrophenylhydrazin-Hydrochlorid in wenig destilliertem Wasser versetzt, nach etwa 5 Minuten der unter Schütteln ausgeflockte Niederschlag abfiltriert, mit Wasser ausgewaschen und auf Tonplatte getrocknet.

Umkristallisiert aus Ligroin (unter Zusatz von einigen Tropfen Benzol), resultieren *goldgelbe Nadeln* oder Blättchen (je nach Lösungsmittel und Abkühlungsgeschwindigkeit) vom Fpt. 114 bis 115°.

---

[1]) Es sei an dieser Stelle auf die *große Zersetzlichkeit* der *p-Nitrophenylhydrazone* an der Luft aufmerksam gemacht. Aceton- und Methyläthylketonderivate lassen sich gut, nicht dagegen lassen sich Methylpropyl- und die folgenden Ketonderivate aufbewahren. Die Zersetzlichkeit steigt mit dem Molekulargewicht und tritt z. B. für Methylnonylketon nach wenigen Stunden schon Zersetzung ein.

[2]) Diese ist etwa der des Äthylalkohols gleichzusetzen.

Mischprobe mit p-Nitrophenylhydrazin-hydrochlorid eines synthetischen Methyl-n-propylketons vom Fpt. 114 bis 116° ergab Fpt. des Gemisches Fpt. 114 bis 115°.

Das Keton erwies sich somit als *Methyl-n-propylketon.*

3. Caprylsäure ⟶ Methyl-n-amylketon.

Die *Versuchsanordnung* war dieselbe wie beim vorangegangenen Versuch mit Capronsäure; es wurden 20 Platten aufgearbeitet.

Der *Nachweis* erfolgte als *Semicarbazon.*

Fpt. des erhaltenen Semicarbazons (1 × Alkohol)	120 bis 122°
Fpt. eines synthetischen Methylamylketon-Semicarbazon (Lit. 123°)	122 „ 123°
Fpt. des Gemisches	120 „ 122°

Das Keton erweist sich somit als *Methyl-n-amylketon.*

4. Caprinsäure ⟶ Methylheptylketon.

Es wurden 15 Platten à 10 ccm aufgearbeitet.

Der *Nachweis* geschah als *Semicarbazon.*

Fpt. des erhaltenen Semicarbazons (1 × Alkohol)	117 bis 118°
Fpt. des Semicarbazons des Methylheptylketons aus Kokosfett-destillation isoliert (Lit. 119 bis 120°)	119 „ 120°
Fpt. des Gemisches	118 „ 119°

Das Keton erweist sich somit als *Methylheptylketon.*

5. Laurinsäure ⟶ Methylnonylketon.

Versuchsanordnung: Eine Emulsion von 10 g Trilaurin, 15 g Gelatine, 120 g Wasser wird mit einem größeren Quantum Bimssteinstückchen gemischt, in einen Rundkolben (2 Liter) gebracht und mit einer Sporenaufschwemmung von Penicillium glaucum beimpft.

Das Wachstum war ungleichmäßig, sporenreich, für eine große Ketonausbeute ungünstig.

Aufarbeitung und Nachweis[1]): Nach 12 Tagen wurde die (neben Keton) stark schimmlig riechende Mischung in demselben Kolben mit Wasserdampf abgeblasen, das Destillat ausgeäthert und das Keton analog wie Methylheptylketon als Semicarbazon isoliert.

Es resultierten einige Kristalle, aus Alkohol umkristallisiert, vom Fpt. 120 bis 123°.

Fpt. des Semicarbazons des Methylnonylketons aus Kokosdestillaten isoliert (Lit. 123°)	123°
Fpt. des Gemisches	120 bis 123°

Das Keton erweist sich somit als *Methylnonylketon.*

6. Myristinsäure ⟶ Methylundecylketon.

Es wurden die ketonpositiven Platten des Versuchs mit Myristinsäure (s. S. 398) verwendet. Die Nährböden wurden in Rundkolben mit überhitztem Wasserdampf (etwa 200°) abgeblasen; das wasserhelle Destillat

[1]) Der hier beschriebene war der erste, qualitativ-chemisch unternommene Versuch, weshalb hier ausnahmsweise gewöhnliche Gelatine als Nährboden (analog Vorversuchen) verwendet wurde. Die Bimssteinstücke sollten dazu dienen, dem Gemisch eine der geraspelten Kokosnuß möglichst ähnliche Konstitution zu geben.

zeigte wohl einen schwachen Ketongeruch, aber keine Ausscheidung an der Oberfläche. Nach längerem Stehen schied sich ein flockiger Niederschlag von Ammonmyristat aus, das sich als Natriumsalz mit NaCl vollständig aussalzen und abfiltrieren ließ.

Der *Ätherauszug* des Wasserdampfdestillats hinterließ keinen Rückstand. *Es gelang somit nicht, die Anwesenheit von Methylundecylketon* unter den vorliegenden Bedingungen *chemisch zu beweisen.*

4. Das chemische Verhalten von Penicillium glaucum auf Ammonsalzen von Fettsäuren mit unpaarer C-Atomzahl.

Als solche wählte ich zu meinen Untersuchungen[1]) *n-Valeriansäure*, $C_5H_{10}O_2$, *Önanthsäure*, $C_7H_{14}O_2$, *Pelargonsäure*, $C_9H_{18}O_2$.

Bekanntlich sind unter den natürlich vorkommenden Triglyceriden fast ausschließlich die Fettsäuren mit *paarer* Kohlenstoffatomzahl vertreten. Diese wurden daher aus praktischen Gründen in erster Linie dem näheren Studium unterzogen.

Besonderer Beachtung wert schienen mir nun aber die in der Natur nur sehr selten vorkommenden Zwischenglieder der bis dahin untersuchten Säuren zu sein.

a) Versuch mit n-Valeriansäure.

Nach den ketonpositiven Resultaten der nächsthöheren Capron- und den negativen der nächsttieferen Buttersäure bot die Valeriansäure ganz besonderes Interesse.

Um die angesetzten Proben sogleich der *chemischen Analyse* unterziehen zu können, wurden dieselben *Versuchsanordnungen* getroffen wie bei den vorangehenden *qualitativen* Versuchen mit Capron- und Buttersäure.

Resultate: Auch hier zeigte sich wiederum mykologisch kein Abweichen von den bisher gefundenen Tatsachen. *Ketongeruch* war, analog den Buttersäureproben, *nie wahrnehmbar.*

Zur *Analyse* wurden nach zweitägiger Bebrütung alle angesetzten Platten (16 Stück) nach vorheriger Alkalisierung der Wasserdampfdestillation unterzogen und das nach leicht geröstetem Zucker (Glucose ⟶ Caramelisierung!) und NH_3 riechende Wasserdampfdestillat nach Neutralisierung mit HCl mit frisch bereiteter filtrierter p-Nitrophenylhydrazin-HCl-Lösung versetzt.

Der sich sonst nach 5 bis 10 Minuten bildende Niederschlag des Hydrazons *blieb aus.* Wiederholungen des Versuchs zeitigten dieselben Resultate.

Der *Nachweis* des zu erwartenden *Methyläthylketons* fiel *negativ* aus. Entsprechend der ähnlichen Konstitution dieses Ketons mit dem Aceton, dürften ähnliche Verhältnisse wie bei der Buttersäure (s. S. 396 und 400) vorliegen.

b) Versuch mit Önanthsäure.

Die *Versuchsanordnung* war dieselbe wie bei Valeriansäure.

Nachweis des Ketons: Die verwendeten 16 Platten wurden mit Wasserdampf abgeblasen, und das Destillat wurde wiederum mit p-Nitrophenyl-

1) *Undecansäure* war mir leider nicht zugänglich, doch dürfte deren Verhalten durch die benachbarten Säuren (Caprin- und Laurinsäure) bestimmt sein.

hydrazin-HCl-Lösung versetzt. Der ziemlich starke, gelbe Niederschlag wird nach 5 Minuten abgenutscht, ausgewaschen, bis H_2O farblos abfließt, getrocknet und aus Ligroin (+ Spur Benzol) umkristallisiert.

Es resultieren goldgelbe Blättchen vom Fpt.	86 bis 88°
Fpt. des synthetischen Methyl-n-butylketon-p-Nitrophenylhydrazons	87 „ 88°
Mischprobe	86 „ 88°

Das Keton erweist sich daher als *Methyl-n-butylketon.*

c) Versuch mit Pelargonsäure.

Versuchsanordnung: Es wurden 20 Platten à 10 ccm Nährsubstrat mit je 3 bis 4 Tropfen Pelargonsäure + Ammoniak auf p_H 7,6 bis 7,8 eingestellt.

Nachweis des Ketons: Das Wasserdampfdestillat wurde mit Äther ausgezogen und der Rückstand mit Semicarbazidlösung versetzt.

Fpt. des erhaltenen Semicarbazons	119 bis 120°
Fpt. des Semicarbazons eines synthetischen Methylhexylketons (Lit. 121 bis 121,5°)	120 „ 121°
Fpt. der Mischprobe	119 „ 121°
Fpt. der *Mischprobe* mit Semicarbazon des Methylheptylketons vom Fpt. 119 bis 120°	108 „ 110°

Das Keton erweist sich somit als *Methylhexylketon.*

5. Das chemische Verhalten von Penicillium glaucum in flüssigen Nährböden unter Zusatz von fettsauren Ammonsalzen.

Verwenden wir an Stelle der Fettsäuren oder der Triglyceride, welche nur als Emulsionen dem Nährboden zugesetzt werden können, die *wasserlöslichen* Ammonsalze der Fettsäuren, so sind wir in der Lage, in *flüssigen Nährmilieus* zu arbeiten.

Ich setzte daher eine Reihe von Versuchen mit Ammoncaprylat in *verschiedenen Nährlösungen* an; unter diesen erweisen sich besonders folgende als geeignet:

1. Bierwürze.

2. Nährlösung I:
1000 Wasser,
10 Glycerin,
5 NaCl,
1 Na_2HPO_4,
0,2 $MgSO_4$,
4,5 Glykokoll.

3. Nährlösung II:
1000 Wasser,
10 Glucose,
4 Glykokoll,
10 Na_2HPO_4,
0,02 $MgSO_4$.

Ammoncaprylat in flüssigem Nährmilieu.

Versuchsanordnung: In vier Erlenmeyer-Kolben à 150 ccm werden je 50 ccm der Nährlösung I (N. L. I) gebracht und die entsprechende Menge Ammoncaprylat eingewogen, mit Ammoniak auf den p_H-Wert von etwa 8,0 eingestellt und im Autoklaven bei 108° während 10 Minuten sterilisiert. Hierauf werden die Nährlösungen mit reichlich Sporen-Hyphenmaterial beimpft und bei 22° bebrütet.

Die Resultate sind in Tabelle VIII zusammengestellt.

Tabelle VIII.

Angesetzt 8. IV. 12h		50 Nährlösung I 0,05 NH_4-Caprylat F blau	50 Nährlösung I 0,1 NH_4-Caprylat F blau	50 Nährlösung I 0,2 NH_4-Caprylat F blau	50 Nährlösung I 0,5 NH_4-Caprylat F blau
9. IV. 9h	W	±	±	—	—
	G	±	+	+	—
	F	blau	blau	blau	blau
10. IV. 15h	W	+	+	+	—
	G	+	++	+	—
	F	grünlich-blau	grünlich-blau	grünlich-blau	blau
11. IV. 10h	W	+	+	+	—
	G	+	++	++	±
	F	grün	gelbgrün	grün	blau
18. IV.	W				+
	G	—[1]	—[1]	—[1]	++
	F				grünblau

[1]) Nach Ausäthern der drei nicht mehr weiter beobachteten Proben blieb farbloser Rückstand, dessen Semicarbazon vom Fpt. 122 bis 123° wiederum bewies, daß *Methylamylketon* vorlag (Mischprobe).

Analoge Versuche mit *Capronsäure* verliefen mit demselben Resultat. Bei Caprin- und Laurinsäure mußte der Säurezusatz infolge der geringeren Löslichkeit der Ammonsalze auf 0,05 bis 0,1 g herabgesetzt werden. Zu konzentrierte Seifenlösungen dieser Säuren zeigen seidenartigen Glanz und sind für das Wachstum des Pilzes hinderlich; mit anderen Worten: *die Ausbeute der Ketone läßt sich nicht durch Erhöhung der Ammonseifenkonzentration erzwingen.*

Diese Methode der Verwendung flüssiger an Stelle fester Nährböden gestattet eine *einfachere Aufarbeitung der Ketone,* indem diese durch Ausschütteln mit Äther in reiner Form gewonnen werden können.

Folgender *Versuch* bestätigt das Gesagte:

8 Kölbchen mit 50 ccm N. L. I + je 0,2 g Ammoncaprylat wurden mit Penicillium II beimpft und nach 2 Tagen mit Äther ausgezogen. (Alle Kölbchen zeigten zuvor intensiven Ketongeruch.) Nach Abjagen des mit Na-Sulfat getrockneten Äthers verblieben etwa 2 bis 3 Tropfen des Ketons im Kolben zurück. Das Semicarbazon desselben gab nach Auswaschen mit Wasser und nach Trocknen und Auswaschen mit Petroläther einen Fpt. von 119 bis 122°; seine Mischprobe mit Methylamylketon-Semicarbazon ergab den Fpt. 120 bis 122°, wodurch die Identität der beiden Körper erwiesen war.

Bevor ich meine *Erfahrungen über den oxydativen Ketonabbau* der Triglyceride hier anführe, sei es mir gestattet, an dieser Stelle die aus den vorangegangenen Kapiteln über Ammonsalze resultierenden Tatsachen kurz zusammenzufassen und deren Konsequenzen betreffend die Anschauungen über die *Bedeutung des Ammoniaks und der Ammonsalze, der freien Fettsäuren und deren Konzentrationsverhältnisse im Stoffwechsel des Schimmelpilzes* zu diskutieren.

Ich fand, daß die Ammonsalze der Fettsäuren unter *geeigneten Bedingungen restlos* in den Stoffwechsel einbezogen werden können. Unter *anderen Bedingungen* erfolgte die Resorption nur *teilweise*, wenn infolge Selbstvergiftung durch freiwerdende Fettsäuren ein Weiterwachstum unterbunden wurde.

Ähnliche Erscheinungen beschreiben *Nikitinsky*[1]) und *Czapek*[2]). Ersterer fand, daß bei Darbietung von Ammonsalzen das allmähliche Sauerwerden der Nährlösung deren Ausnutzbarkeit eine Grenze setzt, und daß es genügt, nach erfolgter Ernte die Säure zu neutralisieren, worauf erneutes Wachstum auftritt. Je giftiger die entsprechende Säure ist, um so niedriger fällt die Ernte aus, die man mit ihrem Ammonsalz erreichen kann. In Versuchen an Aspergillus niger zeigte *Butkewitsch*[3]), „daß die Intensität der Pilzentwicklung der Menge des verbrauchten Ammoniums proportional und diese wiederum umgekehrt proportional der Stärke der Affinität der Säure zum Ammonium ist".

Wenn wir uns daran erinnern, daß Ammonium bzw. die Ammonsalze eine *elektive Stickstoffquelle* für Schimmelpilze darstellen, so weisen die eben erörterten Tatsachen insgesamt dahin, daß eine *Selbstvergiftung* vorwiegend dann eintreten muß, wenn der Pilz gezwungen ist, das *Säureammoniak als Stickstoffquelle* zu benutzen.

Dieser Sachverhalt dürfte in den oben zitierten Versuchen von *Nikitinsky*, sowie in den in Tabellen V und VI meiner Arbeit zusammengestellten Versuchsresultaten bestanden haben. Um die Selbstvergiftung beheben zu können, setzte ich späterhin den Nährmilieux, im Gegensatz zu *Nikitinsky*, gleich von Anfang an Ammoniak im Überschuß zu, in der Erwartung, durch die gebotene elektive Stickstoffquelle es dem Pilz zu ermöglichen, gleichsam *unter dem Schutze des Ammoniaks* die (giftige!) Fettsäure zu resorbieren.

Daß mir dies gelang, während *Czapek* (l. c.) dieselben Versuche mit negativen Resultaten abschließen mußte, bestätigen alle meine späteren Versuche mit Ammonsalzen, wobei ich im besonderen auf die *graphische Darstellung* auf S. 396 hinweise, welche in prägnanter Form den erörterten Fragenkomplex veranschaulichen dürfte.

6. Das chemische Verhalten von Penicillium glaucum auf Nährböden unter Zusatz von reinen Triglyceriden.

Um gleichsam den dritten Versuch [Abbau der Triglyceride in der Kokosnuß (s. S. 382)] in seine Komponenten zu zerlegen, unternahm ich es, dem Pilz die *Triglyceride in reiner Form* (nicht als Fettgemische) vorzusetzen. Die *Resultate* stimmen, wie Tabelle IX zeigt, nahezu mit den Versuchsergebnissen der Ammonseifen überein.

[1]) *Nikitinsky*, Jahrb. d. wiss. Bot. **40**, 1.

[2]) *Czapek*, Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **1**, 538, 1902; **2**, 547; **3**, 47, 1903.

[3]) *Butkewitsch*, Zeitschr. f. wiss. Bot. **38**, 147, 1903.

Tabelle IX.

Butyrin, Caproin und Caprylin auf schwach NH_3-alkalischen Nährböden.

Angesetzt 31. III.		Butyrin		Caproin		Caprylin	
		p_H 7,0	p_H 7,3	p_H 7,0	p_H 7,3	p_H 7,2	p_H 7,5
2. IV.	W	+	+	—	—	++	++
	G	Butters.!	Butters.!	—	—	++	++
	F	gelb	gelb	grüngelb	grün	gelb	grün u. gelb
3. IV.	W	++	++	±	±	++	++
	Sp	—	—	—	—	+	+
	G	Butters.!	Butters.!	±	?	schg.	schg.
	F	gelb	gelb	gelb	grün	blaugrün	blaugrün
4. IV.	W			gehemmt	±		
	Sp	nN	nN	—	—	nN	nN
	G			++	?		
	F			gelb	gelbgrün		
6. IV.	W			gehemmt	gehemmt		
	Sp	nN	nN	+	+	nN	nN
	G			—	—		
	F			gelb	gelb		

Auch hier scheint ein, wenn auch geringerer, Ammoniaküberschuß vorteilhaft zu sein. Auffallend ist vor allem das Verhalten der neutralen *Caprylinprobe*. Man ist geneigt, anzunehmen, daß das kräftige Mycel durch energischen Proteinabbau den Ammoniakmangel ersetzt hat, wodurch die Folgen der Lipasewirkung in unschädlichen Grenzen gehalten werden konnten.

Sodann nimmt die schwach ammoniakalische *Caproinprobe* eine Sonderstellung ein, deren Ursache mir unklar blieb.

Von *Butyrin* gilt das unter Buttersäure Gesagte (s. oben); immerhin besteht die Möglichkeit einer Acetonbildung auch hier (s. S. 400).

Tabelle X.

Caprin, Laurin, Myristin und Olein auf schwach NH_3-alkalischen Nährböden.

Angesetzt 31. III.		Tricaprin grünblau [1]	Trilaurin grün	Trimyristin grün	Triolein grün
2. IV.	W	±	+	+	+
	Sp	+ (Kol.)	±	±	—
	G	++	++	schg.	säuerlich
	F	nN	nN	nN	grün
3. IV.	W	+	++	++	++
	Sp	+	+	+	+
	G	++	++	schg.	süß-säuerlich
	F	gelbgrün	gelbgrün	bläulich-grün	gelbgrün
4. IV.	W	+	+	+	+
	Sp	+	+	++	++
	G	+ (schg.)	+ (schg.)	schg.	säuerlich ranz.
	F	gelbgrün	gelbgrün	bläulich-grün	gelbgrün
8. IV.	W	(Stillstand)	+	(Stillstand)	+
	Sp	++	+	++	+
	G	± (schg.)	+ (schg.)	schg.	nN
	F	gelbgrün	grün	blaugrün	grün

[1]) Bromthymolblau als Indikator.

Die *Resultate* der Tabellen IX und X lassen sich kurz dahin zusammenfassen, daß *Tricaprin* und *Trilaurin Ketonbildung* ermöglichen, *Trimyristin keine wahrnehmbare Ketonbildung* und *Triolein* einen süß-säuerlichen, ranzigen Geruch (Ölsäureoxydation?) zeigten.

7. Das Verhalten von Penicillium glaucum auf Gelatinenährböden unter Zusatz verschiedener Fette und Öle.

Der Gedanke war naheliegend, auf Grund der gefundenen Resultate nach *praktischen Anwendungsmöglichkeiten derselben zu suchen.*

Gelingt es, nach den Tabellen IX und X, aus *reinen Triglyceriden* zum Teil die entsprechenden Ketone zu erhalten, so erscheint es nicht uninteressant, das Verhalten einiger *Glyceridmischungen* in Form verschiedener Fette und Öle nach dieser Richtung zu untersuchen.

Es sei mir gestattet, eine tabellarische Zusammenstellung über die Zusammensetzung der zur Verwendung gelangenden Fette und Öle vorauszuschicken. Die hierzu nötigen Daten entnahm ich dem Werke: *Hefter*, Technologie der Fette und Öle 2, 1908, wo auch die näheren Literaturangaben zu finden sind.

Tabelle XI.
Zusammensetzung der verwendeten Fette und Öle.

	C_4	C_6	C_8	C_{10}	C_{12}	C_{14}	C_{16}	C_{18}	C_{20}	Öl	Lin.	Rhiz.	Div.
1. Kakaobutter.							+	+	?	+	+		
2. Sesamöl . . .							+	+		+	+		
3. Mohnöl . . .							+	+		+	+		
4. Cottonöl . . .							+	+		+	+		
5. Olivenöl . . .							+		+	+	+		
6. Palmöl . . .							+	+		+	+		
7. Mandelöl . .										+	+		
8. Rhizinöl . . .								+				+	+
9. Sojabohnenöl.							+			+	+		
10. Arachinöl . .							+	+	+	+			+
11. Schweinefett .					+	+	+	+		+	+		
12. Lorbeeröl . .					+	+							
13. Palmkernöl .		+	+	+	+	+	+	+		+			
14. Kokosöl . . .		+	+	+	+	+	+	+		+			
15. Kuhbutter [1]) .	+	+	+	+	+			+	+	+			+

[1]) Nach *Frog* und *Schmidt-Nielsen*, diese Zeitschr. 127, 168, 1922.

In einem *ersten Versuche* setzte ich folgende Fett-H_2O-Gelatinemischungen an (Tabelle XII)*):

*) Über Herstellung homogener Mischungen s. S. 380.

Tabelle XII.

Angesetzt 20. XI.		50 Kokosfett 40 H_2O 10 Gelatine	50 Arachisfett (gehärt.) 40 H_2O 10 Gelatine	50 Schweinefett 40 H_2O 10 Gelatine	60 Emmentaler Käse 40 H_2O 0 Gelatine a	b	70 Butter 25 H_2O 5 Gelatine a	b
22. XI.	W	+	+	+	+	+	±	±[1]
	Sp	—	—	+	—	—	—	—
	G	+	schg.	schg.	±	+	±	±
	F[2])	—	—	gelb	—	—	—	—
23. XI.	W	+	+	+	++	++	±	+
	Sp	—	+	++	+	+	—	—
	G	+	schg	schg	NH^3	NH^3	?	±
	F	gelblich	gelb	gelb	?	?	gelblich	—
27. XI.	W	+	+	+	++	++	+	+
	Sp	+	++	++	++	++	+	+
	G	+	schg	schg	schg u. NH^3		?	+
	F	gelb	gelb	gelb	gelb	?	gelb	gelb

[1]) Mikroskopisch sichtbar.
[2]) Färbung des Nährbodens durch Pilzwachstum; kein Indikator!

Ein *zweiter*, auf größerer Basis angelegter *Versuch* wird durch Tabelle XIII a, b wiedergegeben.

Tabelle XIII a. Nährboden: 45 Fett, 45 Wasser, 10 bis 15 Gelatine.

Angesetzt 5. XII.		1 Kakaobutter	2 Sesamöl	3 Mohnöl	4 Cottonöl	5 Olivenöl	6 Palmöl	7 Mandelöl	8 Ricinusöl
7. XII.	W	+	+	—	Kol.	+	—	±	+
	Sp	—	—	—	—	—	—	—	—
	G	—	—	—	ss[1])	käsig	—	—	?
	F	gelblich	gelblich	—	—	—	—	—	—
10. XII.	W	+	+	+	+	+	±	+	+
	Sp	+	++	—	±	++	±	±	±
	G	schg.	schg.	schg.	ss	käsig	—	schg.	+!
	F	gelblich	gelb	gelb	gelb	—	—	gelb	gelb
13. XII.	W	+	+	+	+	+	+	+	+
	Sp	++	++	—	±	++	+	++	±
	G	schg.	E G[2])	E G	E G	E G	ss	E G	E G
	F	gelb	gelb	gelb	gelb	—	—	gelb	gelb
	V[3])	—	+	+	+	+	—	+	+
10. I.	W		?	?	?		+		+
	Sp		++	++	++	nN	++	nN	++
	G	—	ss	ss	ss	schg.	schg.		schg.
	F		gelb[4])	gelb[4])	gelb[4])	—	—		gelb
	V		+	+	+	+	—	+	+

[1]) ss = süß-säuerlich.
[2]) EG = Erdnußgeruch.
[3]) V = Verflüssigung des Nährbodens.
[4]) = Neben Gelbfärbung des Nährbodens Auftreten *schwarzer Flecken* auf der Oberfläche.

Tabelle XIIIb.

Angesetzt 5. XII.		9	10	11	12	13	14
		Sojabohnenöl	Arachinöl	Lorbeeröl	Palmkernöl	Kokosöl	Butter
7. XII.	W	—	+	—	+	±	—
	Sp	—	—	—	—	—	—
	G	—	—	—	+	—	—
	F	—	—	—	gelb	—	—
10. XII.	W	+	+	+	+	+	±
	Sp	±	++	—	—	—	—
	G	ss	schg.!	+	+	±	±
	F	?	gelb	—	gelb	—	—
13. XII.	W	+	+	+	+	+	+
	Sp	±	++	—	±	+	—
	G	ss	EG	+	+	+	±
	F	?	gelb	—	gelb	gelb	gelb
10. I.	W	+	?	+	+	+	+
	Sp	++	++	+	+	+	±
	G	ss!	schg.!	+	+	+	+
	F	?	gelb	[1]	gelb	gelb	—

Resultate der Versuche Tabelle XII und XIIIa, b.

Abgesehen vom biologischen Verlauf der beiden Versuche, ergaben sich in chemischer Hinsicht folgende Beobachtungen:

Keine Ketonbildung zeigten: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10.
Schwache Ketonbildung zeigten: Käse und Butter (erster Versuch).
Deutliche Ketonbildung zeigten: 11, 12, 13 und Butter (zweiter Versuch).

Die stark *öl- (oder linol-) säurehaltigen* keton-negativen Proben wiesen nach einigen Tagen durchweg einen *säuerlich-süßen (ranzigen)* Geruch auf, der späterhin in den typischen „Erdnußgeruch" umschlug. Mit dem Auftreten von Sporen vermischte sich derselbe (wie übrigens bei allen Proben) mit einem anwidernd schimmligen Modergeruch.

Das spärliche Auftreten des Ketongeruchs bei den *Käse-* und *Butterproben* (erster Versuch) ist vor allem zurückführbar auf den geringen Gehalt derselben an niederen Fettsäuren (exklusive Buttersäure, s. Tabelle X). Bedenkt man überdies, daß die fettspaltenden Eigenschaften des Schimmelpilzes sich für alle Glyceride in ungefähr gleichem Maße geltend machen[2]), daß also die Fettsäuren in dem Verhältnis in Freiheit gesetzt werden, wie sie prozentual als Glyceride vorhanden sind, und daß dieser Abbau in unserem Falle nur an der Oberfläche stattfindet (so daß also nur ein Teil der Butter abgebaut wird), so läßt sich die schwache Ketonbildung leicht erklären.

Der *praktischen Bedeutung* dieser Versuche seien im *Anhang* einige Worte gewidmet.

Von den *positiv* verlaufenen Proben (11, 12, 13 und Butter) bot erstere, das *Lorbeerfett*, einiges Interesse. Daß Palmkernöl mit seiner nahezu kokosgleichen Zusammensetzung keine Ausnahme machen werde, war zu erwarten; nicht so sicher schienen die Verhältnisse beim Lorbeerfett zu liegen, enthält es doch neben Trilaurin (80 Proz.) und Trimyristin (etwa

---

[1]) Siehe Anmerkung [4]) auf vorig. Seite.

[2]) *Thum*, Zeitschr. f. angew. Chem. 1890, S. 482.

18 Proz.) ein typisch riechendes, aromatisches Öl[1]), dessen möglicher Einfluß auf den Pilz erst durch den Versuch entschieden werden mußte. Nach 4 Tagen zeigte sich eine deutliche Geruchsveränderung, als deren Ursache *Methylnonylketon* erkannt werden konnte (Vergleich mit der sterilen Probe!).

Das *Resultat* dieser Versuche läßt sich also dahin zusammenfassen, daß nur diejenigen Fette oder Öle vom Penicillium glaucum *nachweisbar* im Sinne der *Ketonbildung* abgebaut werden, welche Glyceride einer oder mehrerer der nachfolgenden Fettsäuren enthalten: *Capron-*, *Capryl-*, *Caprin-*, *Laurinsäure*[2]).

Myristinsäure zeigte analoges Verhalten wie bisher.

Anhang:

I. Die Bedeutung der Methylketone im Biochemismus der Butterranzidität.

Nach den verschiedenen Auffassungen über die Ranzidität der Fette (Einleitung!) ist es keineswegs verwunderlich, daß die Beurteilung der *Butterranzidität* sich hauptsächlich auf *biochemischem Gebiete* bewegt. Ist es auch einerseits einer Anzahl von Forschern gelungen, den Nachweis zu erbringen, daß Fette ohne jegliche Mitwirkung von Mikroorganismen oder Fermenten unter bloßem Luft- und Lichteinfluß ranzig werden, so mußte doch andererseits die chemische Beschaffenheit der Butter, dank welcher sie einen ausgezeichneten Nährboden für Mikroorganismen darstellt, auf ein Entstehen der Ranzidität durch Lebewesen hinweisen. Ich erspare mir an dieser Stelle, die große Zahl der vorhandenen Arbeiten zu zitieren, und verweise auf das Kapitel über „Das Ranzigwerden der Butter und die Butterfehler" in *Lafar*, Handbuch der technischen Mykologie 1908, II, S. 210. Es sei mir dagegen erlaubt, auf Grund meiner gefundenen Resultate auf die Unhaltbarkeit einiger bestehender Anschauungen hinzuweisen.

Je nach den biochemischen Fähigkeiten, welche den verschiedenen Mikroorganismen in der Butter zukommen, muß sich auch die Ranzidität durch verschiedenartige Geruchsstoffe bemerkbar machen. Vor allem interessierte ein *esterartiger* Geruch, dessen Bildung sich die verschiedenen Autoren wie folgt erklären:

---

[1]) *Schädler*, Zeitschr. f. analyt. Chem. 1894, S. 569.

[2]) Wie aus Tabelle XIIIa zu entnehmen ist, zeigte *Ricinusöl* einen vorübergehend ketonartigen Geruch; diese Anomalie kann einzig auf die *Ricinolsäure* zurückführbar sein. Es ließe sich vermuten, daß der Pilz letztere an der Doppelbindung zu sprengen und zu Azelain- und *β-Oxy-Pelargonsäure* zu oxydieren vermag, welche durch Weiteroxydation glatt in *Methylhexylketon* übergehen müßte nach der Gleichung:

$$CH_3(CH_2)_5CHOHCH_2CH{=}CH(CH_2)_7COOH \longrightarrow HOOC(CH_2)_7COOH + CH_3(CH_2)_5CHOHCH_2COOH$$

Ricinolsäure ↓ Methylhexylketon

$$\downarrow$$

$$CH_3(CH_2)_5COCH_3$$

Amthor[1]) nimmt neben Bildung der freien Fettsäuren eine solche von Alkohol aus Milchzucker an und will als Charakteristikum der ranzigen Butter den *Buttersäureäthylester* nachgewiesen haben. *Jensen*[2]) machte dagegen die Erfahrung, „daß der Buttersäureester nicht durch Zusammenwirken eines fett- und eines zuckerspaltenden Organismus entsteht, sondern daß er vielmehr durch einen fettspaltenden *Mycelpilz* allein gebildet wird". Als solchen nennt er Cladosporium Butyri; „Oidium lactis ist wohl ein guter Fettspalter, doch kann er Butter nicht ranzig machen" (keine „Ester" bilden). „Dies liegt wahrscheinlich daran, daß er einen Teil der flüchtigen Fettsäuren verzehrt und einen anderen Teil durch Ammoniakbildung verseift. Wie Cladosporium verhält sich *Penicillium glaucum*; es bildet in der Hauptsache wohl Amylester und erzeugt in Gemeinschaft mit Oidium den bekannten Geruch im Roquefortkäse" (s. später). Über diese „Esterbildung" äußert sich *Jensen* weiter: „Die *Esterbildung* ist nicht auf die Verbindung von Buttersäure und Alkohol, beide aus verschiedenem Material entstanden, zurückzuführen, sondern sie ist als ein Zwischenstadium der Spaltungsvorgänge anzusehen, indem das Glycerin, bevor es völlig von der Buttersäure abgetrennt ist, also vielleicht als Monobutyrin zur Bildung einer Äthylgruppe verwendet wird." Dabei ignoriert *Jensen* die Entstehung des oben erwähnten Amylesters. Auf Grund dieser Theorie stellt er folgende Prognose und teilt die Pilze nach ihrer Fähigkeit in drei Gruppen ein, nämlich in:

1. solche, die nicht fettspaltende, aber Glycerin angreifende Eigenschaften besitzen (Mycodermaarten). Diese können Ester bilden, bauen ihn jedoch nicht ab, da sie nicht fettspaltende (verseifende) Eigenschaften besitzen;

2. solche, welche sowohl fettspaltende als auch Glycerin angreifende Eigenschaften besitzen (Cladosporium und Penicillium glaucum usw.). Diese vermögen vorübergehend Ester zu bilden, doch werden sie vom Pilz weiter abgebaut dank seiner fettspaltenden Eigenschaften;

3. solche, welche nur fettspaltende, nicht aber Glycerin angreifende Eigenschaften besitzen (Oidium lact.). Diese vermögen keine Ester zu bilden (Butter nicht ranzig zu machen).

Dieser Ansicht von *Jensen* möchte ich nun folgende Tatsachen gegenüberstellen: Meine Untersuchungen haben ergeben, daß beim Abbau von verschiedenen Triglyceriden durch gewisse Schimmelpilze „esterartig" riechende *Ketone* entstehen.

Da in der Butter die zur Ketonbildung notwendigen Triglyceride vorhanden sind, und da ferner nach *Jensen* das *Penicillium glaucum* (nebst Cladosporium) für die Bildung des esterartigen Geruchs verantwortlich gemacht werden muß und ich nun meinerseits in Gelatinenährböden mit *Butter* (s. früher) durch *Penicillium glaucum* jenen „Estereffekt" erzeugen konnte, so dürfte damit die *Identität des Ketons* mit dem bisher als Ester angesprochenen unbekannten Körper erwiesen sein. Wie aus der Versuchsanordnung hervorgeht, ist zur Bildung

[1]) *Amthor*, Zeitschr. f. analyt. Chem. 38, 19, 1899.
[2]) *Jensen*, Landwirtsch. Jahrb. d. Schweiz. 15, 329.

des vermeintlichen Estereffekts *weder Zucker noch Glycerin* notwendig, wodurch der *Jensen*schen Ansicht die Grundlagen entzogen werden. Für das *Fehlen der Ketonbildung beim Oidium lactis* dürfte daher nicht seine Unfähigkeit, Glycerin anzugreifen, verantwortlich gemacht werden, sondern es besitzt nicht die Eigenschaft, die Fettsäuren in β-Stellung zu oxydieren (was zur Ketonbildung unbedingt notwendig wäre).

Das *Resultat* läßt sich also so zusammenfassen: Die Butter verdankt ihre Ranzidität dem Einfluß von *Mikroorganismen*. Je nach der Art derselben äußert sich diese durch verschiedene Geruchs- und Geschmacksveränderungen.

Die in der Literatur allgemein verbreitete Ansicht, daß der charakteristische Geruch der ranzigen Butter durch Mycelpilze gebildete *Ester der Buttersäure* seien, ist *irrig*. Ich habe oben den Beweis erbracht, daß es sich nicht um Ester, sondern um eine *Reihe von Methylketonen* handelt, die ihr Entstehen dem Einfluß von gewissen *Schimmelpilzen* (Penicillium glaucum usw.) auf die in der Butter enthaltenen Triglyceride der niederen Fettsäuren (Capron- bis Laurinsäure) verdanken.

II. Über die Entstehung und Bedeutung der Methylketone als Aromastoffe im Roquefortkäse.

Das *Penicillium glaucum* spielt infolge seiner lipolytischen, peptonisierenden und oxydativen Eigenschaften (nebst anderen Organismen) eine bedeutende Rolle als *Käsereifer*. Als Aerobier kommt ihm allgemein die Rolle der Oberflächenreifung zu, im Gegensatz zu den anaeroben Buttersäurebazillen und Verwandten, die die Reifung von innen nach außen veranlassen.

Etwas anders gestaltet sich die Sache beim Roquefort- (ebenso Gorgonzola-, Stracchino-, Parmesan- und Stilton-) Käse; während bei allen übrigen Käsesorten die Mitwirkung des Penicillium fakultativ, auf keinen Fall bestimmend zu sein scheint, so wird bei den oben erwähnten Sorten durch Einimpfen des Penicilliums der Reifungsprozeß in ganz bestimmten Bahnen gehalten.

Dies geschieht nach *Orla Jensen*[1]) etwa folgendermaßen:

Das zur Beimpfung nötige Sporenmaterial wird erhalten durch Schimmelnlassen von säuerlichem, gut gebackenem Gersten- oder Roggenbrot, das, wenn ganz mit dem Pilz bedeckt und grün geworden, vorsichtig getrocknet und gemahlen wird. Dieses grüne Pulver wird dem Käsebruch oder der Schafmilch selbst mit dem Lab einverleibt. Nachher werden die Käse in feuchten luftigen Höhlen bei 5 bis 7° (auf Kosten der Bakterien!) während 6 bis 8 Wochen einem Reifeprozeß überlassen. Damit die im Innern sich befindenden Sporen sich entwickeln können, werden die Käse

---

[1]) *Jensen*, Die Bakteriologie in der Milchwirtschaft. Jena, Fischer, 1913.

von 10 zu 10 Tagen mit langen, möglichst sterilen Nadeln an vorher gereinigten[1]) Stellen der Oberfläche angestochen. Diese Luftzufuhr ermöglicht dem Pilz ein, allerdings beschränktes, Wachstum im Innern des Käses. Dadurch erhält das *Penicillium* dominierenden Einfluß auf den ganzen Verlauf der Reifung, insbesondere auf die *Bildung der spezifischen Aromastoffe.*

Nachfolgende *Zitate über Käsereifung* mögen als Grundlage meiner Überlegungen angeführt sein.

Teichert[2]) äußert sich hierzu: „Wirken die Mycelpilze schon durch ihre eiweißspaltende Tätigkeit geschmacksbildend für den Käse, so tun sie es noch mehr durch ihre Fähigkeit, das im Käse enthaltene Milchfett zu zerlegen, wobei sie flüchtige Fettsäuren freimachen und *Ester bilden.* Ebenso haben *Hanuš* und *Stocky* beim Schimmeln der Butter, wie auch *Scala* und *Jacoangeli*[3]) beim Reifen von Schafmilchkäsen eine Abnahme der Reichert-Meissl-Zahl (*flüchtige* Fettsäuren) gefunden, während die Säurezahl infolge Spaltung der nichtflüchtigen Fettsäuren bedeutend anstieg. *Duclaux*[4]) fand bei einem 5 Jahre alten Käse nur noch 0,9 Proz. *flüchtige Fettsäuren,* wogegen ursprünglich 7 Proz. davon vorhanden waren.

Es scheinen also vor allem die *flüchtigen* Fettsäuren durch die Käsereifer abgebaut zu werden.

Da bei jedem Käsereifungsprozeß durch die mitwirkenden Organismen das Casein peptonisiert und ferner *Ammoniak* frei wird, so ist naheliegend, anzunehmen, daß dieses sofort durch die frei gewordenen *Fettsäuren gebunden* wird.

Laxa[5]) berichtet auch vom Vorhandensein von *Ammonsalzen der Fettsäuren* in gereiften Käsen und meint, daß sowohl Ammoniak wie auch die Fettsäuren unabhängig voneinander entstehen und sich binden. *Löhnis*[6]) äußert sich, „daß das Ammoniak bei der Erzeugung des spezifischen Geschmacks und Geruchs eine nicht unwesentliche Rolle zu spielen scheint. Besonders gilt das für die *capron-*, *capryl-* und *caprinsauren* Ammonverbindungen, denen in besonderem Grade jener bei starker Ausprägung entschieden unangenehme, bei verschiedenen Fäulnisprozessen gleichfalls auftretende, namentlich der Käserinde anhaftende Käsegeruch eigen ist".

Zusammengefaßt läßt sich also feststellen, daß die käsereifenden Mikroorganismen zufolge ihrer fettspaltenden und ammoniakbildenden Fähigkeiten *immer Ammonsalze der Fettsäuren,* und zwar (nach *Hanuš*, *Stocky*, *Duclaux*, *Jacoangeli*, *Laxa* u. a.) vornehmlich der *flüchtigen Fettsäuren*, bilden.

Da nun dem *Penicillium glaucum* unter anderem allgemeine käsereifende Eigenschaften zukommen können, so dürfte die Annahme nahe liegen, daß das Penicillium die *Ammonsalze* auch hier wiederum unter *Ketonbildung* in seinen Stoffwechsel einbeziehen werde.

---

[1]) Damit keine Oberflächenflora ins Innere gelangt.

[2]) *Teichert,* Milchzeitung **32**, 785.

[3]) *Scala* und *Jacoangeli,* Ann. dell' Instituto d' Igiene sperimentale della R. Università di Roma. **2**, 146, 1892.

[4]) *Duclaux,* Arch. f. Hyg. **41**, 127.

[5]) *Laxa,* ebendaselbst **41**, 127.

[6]) *Löhnis,* Handb. d. landw. Bakteriologie.

Die von *Teichert* geäußerte Meinung, daß den Mycelpilzen die Fähigkeit zukomme, Ester zu bilden, dürfte durch meine vorangegangenen Resultate also dahin modifiziert werden können, daß es sich hier wiederum nicht um *Ester*, sondern um *Methylketone* handelt, die den aromatischen *Käseduft* verursachen.

Die Intensität der aromabildenden Stoffe ist daher stark vom Grade und der Qualität der dabei beteiligten Mikroflora (Penicillium, Cladosporium usw.) abhängig.

Um möglichst günstige Verhältnisse zu haben, wählte ich zur *chemischen Isolierung* der vermuteten *Methylketone* den *Roquefortkäse* (s. oben).

Experimentelles: 1 kg Abfälle von Roquefortkäse (möglichst grün durchsetzte, schimmlige Krumen) wurden zerkleinert, mit wenig Wasser angerührt und mit überhitztem Wasserdampf abgeblasen.

Das Wasserdampfdestillat (etwa 1½ Liter) war farblos, klar, ohne jegliche Ausscheidung und roch intensiv nach Fettsäuren und Eiweißzersetzungsprodukten. Durch mehrmaliges Ausschütteln mit viel Äther, Trocknen mit Na-Sulfat und vorsichtiges Abdestillieren desselben erhielt ich einen geringen, farblos flüssigen Rückstand (etwa 2 Tropfen), der neben einem käsigen deutlich den *intensiven Geruch nach Methylamyl- und -heptylketon* erkennen ließ.

Mit Semicarbazid erhielt ich ein weißes *Semicarbazongemisch* vom rohen *Flußpunkt 105 bis 107°.*

Leider erlaubten es mir die geringen Mengen nicht, dieses Gemisch zu spalten und dessen Komponenten zu identifizieren. Ich verseifte daher mit Schwefelsäure und konnte eindeutig den *Geruch* der beiden Methylketone *Methylamylketon* und *Methylheptylketon* feststellen.

Damit dürfte ich bewiesen haben, daß bei der Käsereifung die durch Mikroorganismen (Mycelpilze) verursachten *esterähnlich riechenden Aromastoffe* beim *Roquefortkäse* wiederum *Methylketone* sind.

Zusammenfassung.

1. Der von *Haller* und *Lassieur* erbrachte Nachweis, daß die im ranzigen Kokosfett vorhandenen Geruchstoffe bestimmte Methylketone sind, konnte mit Ausnahme des Methylundecylketons bestätigt werden; *neu* wurde *Methylamylketon* isoliert.

2. Als *Ursache für die Entstehung* dieser Ketone im Kokosfett konnten *Schimmelpilze* (Penicillium und Aspergillus) nachgewiesen werden.

Als biontischer Prozeß findet diese Ketonbildung nur bei Anwesenheit von Wasser und Stickstoffsubstanzen, d. h. in der Natur, im Gewebe der geernteten Kokosnüsse statt.

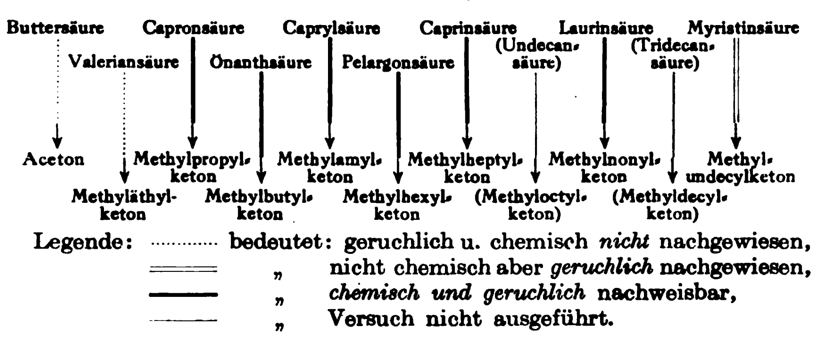
3. Der *Chemismus* verläuft im Sinne der *Dakinschen Synthese*, d. h. der Pilz assimiliert über die *lipolytische* Phase bei *gleichzeitiger Bildung vom Ammoniak* und darauffolgender *Oxydation* der gebildeten *Ammonsalze zu Ketonen*, die in der Kokosnuß vorhandenen Triglyceride.

4. Das Vorhandensein dieser Phasen wird *bewiesen*. Das Penicillium führt in Reinkultur unter den festgelegten Bedingungen sowohl die *freien Fettsäuren* (soweit es deren Giftigkeit zuläßt!), *deren Ammonsalze* sowohl als auch die reinen *Triglyceride*, in die entsprechenden *Ketone* über.

Die Ketone selbst sind als intermediäre Stoffwechselprodukte aufzufassen, deren Weiteroxydation durch den Pilz nicht näher untersucht wurde.

5. Überdies werden die zur Ketonbildung für das Penicillium *optimalen Lebensbedingungen* aufgeklärt.

6. Nachfolgende Aufstellung erhellt schematisch die mit gesättigten Fettsäuren (als Ammonsalze verwendet) gefundenen Versuchsresultate:



7. Von den *natürlich vorkommenden Fettgemischen* sind diejenigen dem Ketonabbau unterworfen, welche dem Penicillium glaucum sowohl die nötigen Lebensmöglichkeiten bieten, als auch die entsprechenden Triglyceride enthalten. Es kommen außer dem Kokosfett das *Palmkern-* und *Lorbeeröl*, die *Kuhbutter* und einige *Käsesorten* in Frage.

8. Der *bisherige Ranziditätsbegriff* vom Kokosfett (und seinen Verwandten) muß modifiziert werden.

Allgemein ist eine *Aldehydranzidität* bekannt, entstanden durch *Oxydation der Ölsäure* unter Einwirkung von Luft und Licht, im Gegensatz (und unabhängig von der Ölsäure) zu der *Ketonranzidität* des Kokosfettes, die durch *oxydativen Abbau der Triglyceride bzw. Fettsäuren zu Ketonen* mittels *Schimmelpilzen* zu erklären ist.

9. Die bisher angenommene *Esterranzidität* der Butter ist unhaltbar. An deren Stelle tritt ebenfalls die *Ketonranzidität*.

10. Die charakteristischen *Aromastoffe* bei der Reifung des Käses durch Schimmelpilze sind beim *Roquefortkäse keine Buttersäureester, sondern Methylketone*.

Vegetatives Nervensystem und Elektrolytverteilung[1]).

Von

Ernst Wollheim.

(Aus der II. medizinischen Universitätsklinik der Charité, Berlin.)

(Eingegangen am 7. August 1924.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die Versuche von *S. G. Zondek*[2]) zeigten, daß an überlebenden Organen des Meerschweinchens die Wirkung der antagonistischen vegetativen Nerven durch bestimmte Elektrolyte — durch Kalium der Vaguseffekt, durch Calcium der Sympathicuseffekt — ersetzbar sind. Den Zusammenhang von Nerv- und Elektrolytwirkung im Gesamtorganismus untersuchten weiterhin *Billigheimer*[3]), *Dresel* und *Katz*[4]). Sie fanden nach Adrenalininjektion eine Senkung des Ca- aber auch des K-Gehaltes im peripheren Venenblut. *Dresel* und ich[5]) konnten zeigen, daß neben der stets vorhandenen Senkung des Calciumgehaltes die Schwankungen des Kaliums mehrere Typen erkennen lassen und offenbar durch regulatorische Vorgänge bedingt sind, die je nach dem verschiedenen Erregungszustand des vegetativen Nervensystems verschiedene Intensität zeigen. Durch vergleichende analytische Untersuchungen des überlebenden Meerschweinchendarms und seiner Nährlösung konnten wir ferner zeigen, daß die durch Adrenalin bedingten Elektrolytveränderungen tatsächlich in einem Austausch zwischen Nährlösung und Gewebe bestehen.

Da die bisherigen Untersuchungen niemals den reinen Effekt von Vagus- bzw. von Sympathicuswirkung innnerhalb des Organismus zeigen konnten, untersuchte ich die Änderungen der Elektrolytverteilung in einem bestimmten Gefäßgebiet (Vena porta) bei faradischer Reizung der zugehörigen vegetativen Nerven, nachdem zuvor die betreffenden Antagonisten ausgeschaltet waren. Die Durchschneidung beider N. vagi am Magen, bzw. beider N. splanchnici führt allein zu keiner charakteristischen Veränderung des Elektrolytgehaltes der Pfortader. Auch nach Durchschneidung beider Nervenpaare finden sich in der Pfortader

---

[1]) Die Arbeit wurde mit Unterstützung der Rockefeller Foundation angefertigt, der ich auch an dieser Stelle meinen Dank aussprechen möchte.

[2]) *S. G. Zondek*, diese Zeitschr. **132**, 362, 1922; Deutsch. med. Wochenschrift 1921, Nr. 50.

[3]) *E. Billigheimer*, Klin. Wochenschr. **6**, 256, 1922.

[4]) *Dresel* und *Katz*, ebendaselbst 1922, Nr. 32.

[5]) *Dresel* und *Wollheim*, Pflügers Arch. 1924.

noch annähernd die gleichen K- und Ca-Werte wie vor dem Eingriff und damit die normale Elektrolytverteilung auf Blut und Gewebe (s. Tabelle I). Diese Tatsache ist am besten durch die Annahme peripherer „Regulationsmechanismen" zu erklären. Einmal sind für die Elektrolytverteilung rein physikalisch-chemische Gesetzmäßigkeiten maßgebend (z. B. Donnangleichgewichte), andererseits kommen hier die peripheren vegetativen Ganglien (das intramurale System) in Frage. Diese Anschauung ist auch durch die Befunde am überlebenden Meerschweinchendarm nach Adrenalinzusatz zur Nährlösung nahegelegt, wie bereits oben erwähnt wurde[1]). Im gleichen Sinne — einer Verwischung des Bildes durch Regulationsmechanismen — ist auch die Tatsache zu deuten, daß Reizung des einen vegetativen Nerven ohne vorherige Ausschaltung des Antagonisten nicht zu einer wesentlichen Änderung des Quotienten K:Ca im Pfortaderblut führt (s. Tabelle II). Zwar ist diese Versuchsanordnung scheinbar physiologischer, da sie am intakten Organismus arbeitet; aber im Experiment liegt notwendigerweise zwischen Reiz und Blutentnahme zur Analyse des Reizeffektes ein mehr oder weniger großer Zeitraum. In dieser Zeit (wahrscheinlich weniger als 30 Sekunden) setzen die regulatorischen Vorgänge ein. Für den Effekt des Reizes ist aber allein die momentane noch nicht regulierte Konzentrationsverschiebung bedeutungsvoll. Will man diese erfassen und damit ein Bild vom tatsächlichen Geschehen im Organismus erhalten, so ist es besser, die regulierenden antagonistischen Nerveneinflüsse nach Möglichkeit auszuschalten und die in unseren Versuchen gewählte Methodik anzuwenden.

Tabelle I. Vena porta.

		K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	K : Ca[2])	Refraktion, Skalenteile des *Pulfrich*schen Refraktometers = Eiweißproz. nach *Reiss*
Hund 21	vorher	18,01	12,6	1,41	59,5 = 8,172
	30 Min. nach doppelseitiger Vagusdurchschneidung	17,608	12,8	1,37	60,2 = 8,322
Hund 28	vorher	17,052	10,0	1,70	56,5 = 7,624
	30 Min. nach doppelseitiger Splanchnicusdurchschneid.	17,182	10,1	1,70	57,2 = 7,674
Hund 27	vorher	21,502	10,3	2,08	55,2 = 7,242
	10 Min. nach Durchschneid. beider N. vagi am Magen	22,626	9,99	2,25	55,4 = 7,284
	15 Min. später	20,792	9,99	2,08	55,0 = 7,20
	10 Min. nach doppelseitiger Splanchnicusdurchschneid.	21,348	10,0	2,13	55,0 = 7,20

[1]) *Dresel* und *Wollheim*, l. c.

[2]) Die Veränderungen des Verhältnisses K : Ca, ausgerechnet nach Äquivalent-Milligrammprozent, gehen den mitgeteilten Zahlen immer parallel und sind daher nicht besonders aufgeführt.

Tabelle II. Vena porta.

Versuch		K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	K : Ca[1])	Refraktion, Skalenteile des *Pulfrich*schen Refraktometers = Eiweißproz. nach *Reiss*
A	Hund 30 vorher	21,584	11,2	1,93	60,2 = 8,322
	Hund 30 nach farad. Reizung des linken N. splanchnicus	21,584	10,7	2,01	60,0 = 8,28
B	Hund 16 vorher	26,98	11,2	2,40	—
	Hund 16 nach farad. Reizung des linken N. vagus am Zwerchfelldurchtritt	31,808	12,8	2,40	—

Zur Frage nach der Bedeutung des zentralen Nerveneinflusses geben die erwähnten Versuche einen Hinweis in der Richtung, daß ein Vorgang, der auch ohne zentralnervöse Verbindung abläuft, durch diese in seiner Intensität geregelt, gedämpft oder gesteigert wird, und damit eine konstante Beziehung zwischen Reizgröße und Reizeffekt hergestellt wird.

Methodik.

Die Versuche wurden meist an Hunden in intravenöser Narkose mit 25proz. Urethanlösung, sowie an Kaninchen und an Katzen ausgeführt[2]).

1. Nach Durchschneidung beider Nervi vagi am Zwerchfelldurchtritt wurde die Elektrode des Induktionsapparats auf den linken oder rechten Nervus splanchnicus dicht vor dem Eintritt des Nerven ins Ganglion coeliacum gelegt. 1 Stunde nach der Vagusdurchschneidung ist, wie Vergleichsanalysen des Pfortaderblutes zeigten, der Elektrolytgehalt gleich dem vor der Operation. Es wurden dann jedesmal vor der Reizung 6 bis 8 ccm Blut aus der Vena porta entnommen, 1 bis 2 Minuten faradisch der Splanchnicus gereizt und bei fortdauernder Reizung wieder 6 bis 8 ccm Blut der Pfortader entnommen. Der gleiche Versuch wurde zum Teil nach 1 Stunde am gleichen Tier wiederholt. Zum Teil wurde auch die Vagusdurchschneidung in einer Voroperation und der Reizversuch erst 1 Woche später ausgeführt.

2. Nach Durchschneidung beider Nervi splanchnici dicht vor dem Eintritt ins Ganglion wurde der linke oder rechte Vagus am Zwerchfelldurchtritt präpariert und auf die Elektrode des Reizapparats gelegt. Ungefähr 1 Stunde später wurde nach Entnahme von 6 bis 8 ccm Blut aus der Vena porta der Vagus 1 bis 2 Minuten faradisch gereizt und wieder bei noch dauernder Reizung 6 bis 8 ccm Blut der Vena porta entnommen. Auch dieser Versuch wurde zum Teil 1 Stunde später wiederholt.

Die Analysen auf Kalium und Calcium wurden im Serum nach den Methoden von *Kramer* und *Tisdall*[3]) ausgeführt. Außerdem wurde die Konzentration des Serums refraktometrisch bestimmt.

---

[1]) Vgl. Anmerkung 2 zu Tabelle I.

[2]) Die intravenöse Urethannarkose bietet den Vorteil genauer Dosierbarkeit; es genügten meist 15 bis 20 ccm zu Beginn des Versuchs für die ganze Dauer. Auf den K- und Ca-Gehalt des Blutes hat die Urethannarkose nur geringen Einfluß.

[3]) *Kramer* und *Tisdall*, Journ. of biol. Chem. **46**, 339; **47**, 475, 1921.

Kalium und Calcium wurden als Elektrolyte von besonderer biologischer Wichtigkeit und leichter Nachweisbarkeit herausgegriffen. Damit sollen keineswegs gerade diese beiden Kationen als allein wirksam bezeichnet werden.

Es ist vielfach gegen Bestimmungen des Gesamtkaliums und -calciums im Blute der Einwand erhoben worden, daß aus ihnen keine Schlüsse auf die Ionenverteilung im Gewebe, auf die allein es biologisch ankäme, zu ziehen wären. Eine einwandfreie Methode zur Bestimmung des ionisierten Anteils der Elektrolyte existiert bisher nicht. *Schade*[1]) hat prinzipielle Einwendungen, die gegen die Möglichkeit einer solchen Methode bestehen, hervorgehoben. Zwei Momente sind hier besonders wichtig: 1. ist es wahrscheinlich, daß sich bei der Blutentnahme, Gerinnung usw. die Dissoziation bereits wesentlich verändert; 2. sind Schwankungen in der Ionisation innerhalb des Gewebes allein durch Elektrolytbewegung zwischen Zelle und Gewebsflüssigkeit denkbar. Wesentlich ist der Funktionszusammenhang zwischen Elektrolyten und Gewebskolloiden. Bei der oben beschriebenen Methode kann die Zu- bzw. Abnahme des Gesamtelektrolytgehaltes in der Pfortader allein durch Zu- bzw. Abwanderung der Kationen in den Geweben im Quellgebiet der Pfortader zustande kommen. Die mit dieser Methode gewonnenen Ergebnisse lassen daher durchaus Schlüsse auf das Verhalten der Gewebeelektrolyte zu. Es ist so möglich, aus dem Verhalten von Kalium und Calcium im Pfortaderblut umgekehrte Konzentrationsverschiebungen in den zugehörigen Geweben bei faradischer Reizung des versorgenden vegetativen Nerven zu erkennen.

Durchschneidet man beide Vagi und *reizt den Splanchnicus*, so läßt sich regelmäßig im Pfortaderblut eine Verschiebung des Quotienten K:Ca zugunsten des Kaliums nachweisen, *im Gewebe* ist daher ein relatives *Calciumübergewicht* anzunehmen. Diese Veränderung kommt teils durch Sinken der Calciumwerte, teils bei gleichbleibendem Calcium allein durch Ansteigen der Kaliumwerte in der Vena porta zustande (Tabelle III und Kurve I). Gleichzeitig kommt es zu einer geringen *Konzentrationserhöhung des Pfortaderblutes* (s. Tabelle III). Diese Befunde zeigen, daß es auch hier allein auf die relativen Mengen der einzelnen Elektrolyte ankommt, daß Verminderung des Kaliums bei konstantem Calcium einer absoluten Calciumvermehrung gleichzusetzen

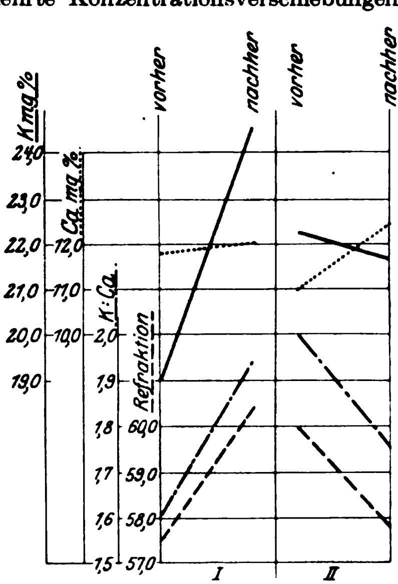


Abb. 1. Kurven I: Pfortaderblut vor und nach Splanchnicusreizung. Kurven II: Pfortaderblut vor und nach Vagusreizung.

---

[1]) Kongreß für innere Medizin, Kissingen 1924.

Tabelle III.

Nach doppelseitiger Vagusdurchschneidung faradische Reizung des linken N. splanchnicus. Vena porta.

Nr.			K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	K : Ca [1])	Refraktion. Skalenteile des *Pulfrich*schen Refraktometers = Eiweißproz. n. *Reiss*
1	Hund 21	vorher	17,608	12,8	1,37	60,2 = 8,322
		nachher	18,886	11,6	1,62	62,2 = 8,750
2	Hund 26	vorher	19,028	11,8	1,61	57,5 = 7,740
		nachher	24,708	12,0	2,05	60,4 = 8,365
3	Hund 23	vorher	19,88	10,1	1,96	52,0 = 6,552
		nachher	21,442	10,3	2,08	53,2 = 6,811
4	Hund 23 1 Std. später	vorher	17,04	10,2	1,67	52,0 = 6,552
		nachher	19,312	10,3	1,87	52,9 = 6,746
5	Kaninchen 6	vorher	24,708	13,1	1,88	51,2 = 6,379
		nachher	24,424	12,4	1,97	48,1 = 5,705

Tabelle IV.

Nach doppelseitiger Splanchnicusdurchschneidung faradische Reizung des rechten oder linken N. vagus am Magen. Vena porta.

Nr.			K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	K : Ca [1])	Refraktion. Skalenteile des *Pulfrich*schen Refraktometers = Eiweißproz. n. *Reiss*
6	Hund 22	vorher	17,324	7,8	2,22	49,2 = 5,945
		nachher	15,17	8,6	1,76	48,5 = 5,793
7	Hund 22 1 Std. später	vorher	16,756	7,9	2,12	47,8 = 5,640
		nachher	14,91	8,3	1,79	47,4 = 5,553
8	Hund 24	vorher	22,01	11,0	2,00	60,0 = 8,28
		nachher	21,726	12,4	1,76	57,8 = 7,804
9	Hund 24 1 Std. später	vorher	21,868	10,8	2,02	53,2 = 6,811
		nachher	20,874	12,6	1,65	—
10	Hund 28	vorher	17,182	10,1	1,70	57,2 = 7,674
		nachher	13,774	10,2	1,35	55,8 = 7,372
11	Katze 2 [2])	vorher	16,614	10,2	1,62	54,0 = 6,984
		nachher	14,91	10,3	1,44	52,5 = 6,660

ist, wie es für das *Straub*sche Froschherz in Arbeiten von *Kraus* und *Zondek*[3]) und von *Köller*[4]) gezeigt wurde.

Reizt man nach Durchschneidung beider Splanchnici den rechten oder linken *Vagus*, so findet sich im Pfortaderblut regelmäßig eine absolute Zunahme des Calciums und häufig auch eine Abnahme des

[1]) Vgl. Anmerkung 2 zu Tabelle I.

[2]) 6 Tage nach Durchschneidung beider N. splanchnici.

[3]) *S. G. Zondek*, l. c.; *Fr. Kraus*, Insuffizienz des Kreislaufapparates im *Kraus-Brugsch*, Spezielle Pathologie und Therapie innerer Krankheiten 4.

[4]) *Köller*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **102**, 23, 1923.

Kaliumgehaltes. Das Verhältnis K:Ca ist stets deutlich zugunsten des Calciums verschoben (Tabelle IV und Kurve II). *Im Gewebe* besteht demnach ein relatives *Kaliumübergewicht.* Dieser Effekt geht einher mit einer leichten *Verdünnung des Pfortaderblutes* (Tabelle IV).

Diese Befunde zeigen, daß, ganz im Sinne der von *S. G. Zondek*[1]) aufgestellten Theorie, Vagusreizung zu einer relativen Kaliumvermehrung, Sympathicusreizung zu einer relativen Calciumvermehrung im Gewebe führt[2]). Daß die spezifische Art der Elektrolytverschiebung und die durch sie bewirkten sekundären Änderungen des Wassergehaltes, der Acidität, Permeabilität usw. für die im Gewebe durch vegetativnervöse Reizung hervorgerufenen Veränderungen wesentlich ist, zeigt eine weitere Reihe von Versuchen. *Fr. Kraus*[3]) hat zuerst darauf hingewiesen, daß die negativ chronotrope Wirkung der Vagusreizung am Herzen durch vorherige intravenöse Injektion von $CaCl_2$ in ihr Gegenteil verkehrt werden kann. Injiziert man den Versuchstieren (Hund oder Katze) zwei- bis dreimal in Abständen von 10 Minuten 0,02 bis 0,03 g $CaCl_2$ (in 10proz. Lösung) in eine Vene, so führt jedesmal die Injektion nur zu einer schnell abklingenden Blutdruckschwankung. Die Injektionen wurden teils in die Vena porta, teils in die Vena jugularis vorgenommen. Im Blut der Vena porta sind nach den Injektionen die Ca-Werte mehr oder weniger erhöht, die K-Werte erniedrigt. Besonders ausgeprägt war dies bei der Katze Nr. 2 (vgl. Nr. 11, Tabelle IV und Nr. 12, Tabelle V) der Fall. Reizt man jetzt den Vagus nach Durchschneidung der Splanchnici in der oben beschriebenen Weise, so findet sich im Pfortaderblut regelmäßig eine Vermehrung des Kaliums bei annähernd gleichgebliebenem oder leicht vermindertem Calcium. Der Quotient K:Ca verschiebt sich also im Blute zugunsten des Kaliums, im Gewebe zugunsten eines Calciumübergewichtes (s. Tabelle V). Die *Vagusreizung nach Vorbehandlung mit* $CaCl_2$ entspricht also in ihrem *Elektrolyteffekt* vollkommen *einer Sympathicuserregung.* Erinnern wir uns an die oben erwähnte Umkehrung des Vagusreizeffektes am Herzen nach $CaCl_2$-Vorbehandlung [*Fr. Kraus*[4])], so legen diese beiden Befunde zusammengenommen den Schluß nahe, daß die Elektrolytverschiebung nicht nur eine Begleiterscheinung der vegetativnervösen Erregung ist, sondern die Art und Richtung der in den Erfolgsorganen auszulösenden physikalisch-chemischen und chemischen Vorgänge wesentlich bestimmt.

Diese Versuche geben auch einen Hinweis auf die Bedeutung des Elektrolytgehaltes der Gewebe als konstitutionelles Moment. Ist der

[1]) *S. G. Zondek,* l. c.

[2]) Vgl. hierzu auch *Dresel,* Klin. Wochenschr. 1924, S. 311.

[3]) *Fr. Kraus,* Deutsch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 8.

[4]) *Fr. Kraus,* l. c.

Tabelle V.

Nach Durchschneidung beider N. splanchnici Vorbehandlung mit dreimal 0,2 bis 0,3 g $CaCl_2$. Reizung des linken oder rechten N. vagus. Vena porta.

Nr.			K mg-Proz.	Ca mg-Proz.	K : Ca [1])	Refraktion, Skalenteile des *Pulfrich*schen Refraktometers = Eiweißproz. n. *Reiss*
12	Katze 2 [2])	vorher	8,52	13,3	0,64	50,8 = 6,292
		nachher	11,644	13,5	0,86	50,0 = 6,12
13	Hund 25	vorher	14,472	11,8	1,22	56,0 = 7,416
		nachher	20,732	10,0	2,07	55,0 = 7,20
14	Hund 29	vorher	19,454	11,2	1,73	55,0 = 7,20
		nachher	22,72	11,6	1,95	56,6 = 7,545

gegebene Gewebselektrolyt für den Effekt der vegetativ-nervösen Reizung von ausschlaggebender Bedeutung, so ist daran zu denken, ob nicht eine solche Umstimmung der Gewebe für die klinischen Bilder lokaler, weniger wohl allgemeiner Sympathico- und Vagotonie in Frage kommt. Die stärkere „Erregbarkeit" des Sympathicus bzw. Vagus tritt nur als stärkerer Effekt normaler Reizung in Erscheinung. Sie ist ebensogut wie durch die Annahme einer Regulationsstörung dadurch erklärbar, daß die einzelnen vegetativ-nervösen Reize nicht, wie normal, antagonistische Effekte, sondern gleichsinnige, sich summierende Wirkungen hervorrufen. Für diese Hypothese sprechen auch die Befunde von *Kraus*[3]) am Elektrokardiogramm. Er fand charakteristische Abweichungen der Ströme beim Vagus-(K-) wie beim Sympathicus-(Ca-) Herzen. Diese Tatsache läßt sich am besten durch die Verschiedenheiten der Gewebselektrolyte erklären[4]). Klinische Untersuchungen müssen sich weiter mit dieser Annahme beschäftigen. Worin diese Umstimmung der Gewebskonstitution, die zur Umkehr des Reizeffektes führt, im einzelnen besteht, läßt sich aus diesen Versuchen nicht schließen[5]).

[1]) Vgl. Anmerkung 2 zu Tabelle I.

[2]) Vgl. die Werte desselben Tieres vor Vorbehandlung mit $CaCl_2$ in Tabelle IV, Versuch 11.

[3]) *Fr. Kraus* und *S. G. Zondek*, Klin. Wochenschr. **86**, 1773, 1922.

[4]) Vgl. hierzu auch *Kraus*, *Wollheim* und *Zondek*, ebendaselbst 1924, Nr. 17.

[5]) Von Wichtigkeit für die Calciumtherapie scheint die Tatsache zu sein, daß diese Umstimmung des Organismus besser durch mehrfache Injektionen kleiner Calciumdosen, von denen jede nur einen geringen Effekt auslöst, bewirkt wird, als durch einmalige Zuführung der gleichen Gesamtmenge. Wünscht man also therapeutisch eine solche Umstimmung zu erzielen, so würde sich die häufige Anwendung kleiner Dosen empfehlen (z. B. 3mal täglich 0,005 g $CaCl_2$ pro Kilogramm Körpergewicht, 10proz. Lösung, intravenös).

Neben quantitativen Veränderungen im Elektrolytgehalt der Gewebe kommen vor allem Änderungen im Ampholytcharakter der Gewebskolloide als Ursache in Frage.

Wichtig scheint mir auch als Ergebnis der Versuche, daß stets gleichzeitig mit den Elektrolytverschiebungen charakteristische Konzentrationsänderungen im Pfortaderblut gefunden wurden: Jede Verteilungsänderung der Elektrolyte führt auch zu einer Wasserbewegung, wie für den speziellen Fall der alimentären Elektrolytverschiebungen an anderer Stelle bereits gezeigt wurde[1]). Diese Wasserbewegungen deuten auf Veränderungen im Quellungszustand der Kolloide hin. Sie machen Struktur- und Oberflächenveränderungen der Zellen und damit die Auslösung chemischer und fermentativer Prozesse begreiflich.

Fassen wir das Ergebnis der Versuche zusammen, so läßt sich sagen:

1. Jede *Splanchnicusreizung* nach Vagusausschaltung führt zu einer *relativen Kaliumvermehrung im Pfortaderblut* und dementsprechend zu einem *relativen Calciumübergewicht im Gewebe.*

2. Jede *Vagusreizung* nach Splanchnicusausschaltung bewirkt *relative Calciumvermehrung im Pfortaderblut,* also *im Gewebe Kaliumanreicherung.*

3. Der typische Vagusreizeffekt läßt sich durch Vorbehandlung der Versuchstiere mit mehrfachen kleinen Calciumdosen umkehren, so daß Vagusreiz zu einer Elektrolytverschiebung führt, die sonst bei sympathischer Erregung gefunden wird.

4. Aus diesen Versuchen, die die von *S. G. Zondek* an isolierten Organen aufgestellte Theorie im Gesamtorganismus verifizieren, wird geschlossen, daß der sympathische Reiz zu einer Calciumkonzentrierung, der Vagusreiz zu einer Kaliumkonzentrierung im Gewebe führt. Für diese typischen Effekte ist die normale Elektrolytkonstitution der Gewebe wichtig.

5. Die Verteilungsänderungen der Elektrolyte bewirken *Wasserverschiebungen* und können so die physikalisch-chemischen und chemischen Vorgänge auslösen, die als Folge vegetativ-nervöser Erregung auftreten.

---

[1]) *Wollheim,* Klin. Wochenschr. 1924, Nr. 17.

Die chemische Atmungsregulation bei alkalischer Blutreaktion.

Von

Klothilde Gollwitzer-Meier.

(Aus der medizinischen Klinik der Universität Greifswald.)

(Eingegangen am 7. August 1924.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

Die Theorie, daß die Wasserstoffionenkonzentration des Blutes bzw. des Atemzentrums selbst den chemischen Atmungsreiz darstellt[1]), scheint nach neueren Untersuchungen, vor allem amerikanischer Autoren, eine Einschränkung zu erfahren. Unter gewissen Umständen vermag die *Winterstein*sche Theorie das Verhalten von Atmung und Reaktion nicht zu erklären. Es handelt sich dabei vorzugsweise um alkalische Reaktionen.

Hooker, *Wilson* und *Connett*[2]) haben die isolierte Medulla von Säugetieren mit Blut von verschiedener CO_2-Spannung und gleichem H-Ionengehalt durchspült. Sie schüttelten defibriniertes Blut an der Luft und teilten es in zwei Portionen; davon wurde die eine mit 5 Proz. CO_2 geschüttelt und dann die H-Ionenkonzentration dieses Blutes mit Indikatoren und elektrometrisch bestimmt. Die zweite Portion wurde mit HCl versetzt, bis sie die gleiche Reaktion hatte, und die durch HCl frei gemachte CO_2 durch Schütteln entfernt. Auf diese Weise waren zwei Blutproben erhalten worden mit gleicher Reaktion und verschiedenem CO_2-Gehalt. Bei der Durchspülung der Medulla zeigte es sich nun, daß der Einfluß des CO_2-reichen Blutes auf die Atmung viel größer war als der des CO_2-armen bei derselben Reaktion. Die Autoren kommen zu dem Schluß, daß wahrscheinlich die H-Ionenkonzentration des Blutes wohl den eigentlichen Atemreiz darstelle, daß aber die Erregbarkeit des Zentrums durch verschiedene Faktoren, CO_2, O_2 und andere Ionen beeinflußt werde.

Mit der *Winterstein*schen Theorie scheinen auch die Versuche von *Scott*[3]) im Widerspruch zu stehen. *Scott* untersuchte an decerebrierten Katzen den Einfluß einer vermehrten CO_2-Spannung der Einatmungsluft vor und nach einer intravenösen Alkaliinjektion. Durch die Injektion von Na_2CO_3 wird die Blutreaktion sehr stark alkalisch, ohne daß die Atmung

---

[1]) *H. Winterstein*, Arch. f. d. ges. Physiol. **138**, 167, 1911.

[2]) *Hooker*, *Wilson* und *Connett*, Amer. Journ. of Physiol. **43**, 35, 1917.

[3]) *Scott*, ebendaselbst **47**, 43, 1919.

verändert wird. Läßt man nun die Tiere ein Luftgemisch mit 5 Proz. CO_2 einatmen, so nimmt die Atemfrequenz trotz der alkalischen Blutreaktion zu. Der Einfluß der CO_2 auf die Atemfrequenz ist fast derselbe, wenn die Blutreaktion normal oder stark alkalisch ist, im ersteren Falle ist das Minutenvolumen etwas größer. Daß überhaupt ein Unterschied in der Reaktionsweise besteht, bezieht *Scott* darauf, daß bei alkalischer Reaktion der Pufferwert des Blutes größer ist und bei normaler Reaktion als doppelter Reiz die H-Ionenkonzentration hinzukommt. Er nimmt an, daß bei alkalischer Blutreaktion der Einfluß der Kohlensäure nicht nur auf ihrer Säurenatur beruhe, sondern daß die undissoziierte Kohlensäure als „spezifisch-respiratorisches Hormon" wirke. Bei leicht alkalischer Reaktion wird nach *Scott* die Atmung so reguliert, daß eine bestimmte CO_2-Spannung aufrechterhalten wird. *Collip* und *Backus*[1]) zeigten, daß das Atemzentrum durch Injektion einer $NaHCO_3$-Lösung in das Foramen magnum oder die Carotiden gereizt wird, obwohl durch eine $NaHCO_3$-Injektion die Reaktion alkalischer wird. Durch intralumbale Injektion von $NaHCO_3$ erzeugte *Collip*[2]) eine intensive Hyperpnoe. Er glaubte, daß seine Versuche auf eine spezifische Empfindlichkeit des Atemzentrums gegenüber dem HCO_3-Ion hinweisen, oder daß die Reizwirkung des $NaHCO_3$ ihre Ursache in einer Störung des Kationengleichgewichtes in den Nervenzellen habe. Auch *Mellanby*[3]) teilt Versuche mit, in denen eine Beziehung zwischen der Blutreaktion und Atmung fehle. CO_2 erzeugt eine starke Zunahme des Atemvolumens und geringe Veränderungen der Blutreaktion, während Na_2CO_3 die Blutreaktion stark alkalisch mache, die Atmung aber kaum beeinflusse. *Dale* und *Evans*[4]) beobachteten eine Verkürzung der Überventilationsapnoe durch $NaHCO_3$-Injektionen, obwohl dadurch die Blutalkaleszenz größer geworden war. Sie schreiben der undissoziierten Kohlensäure einen erregenden Einfluß auf das Atemzentrum zu. Die gleiche Ansicht vertritt auch *Gesell*[5]), der den Parallelismus zwischen Lungenventilation und arterieller CH nur für ein zufälliges Ereignis hält, das unter gewissen Bedingungen vorherrscht.

Nach den Beobachtungen dieser Autoren scheint bei alkalischer Blutreaktion nicht die H-Ionenkonzentration, sondern die Kohlensäure den chemischen Atemreiz zu bilden. Sie sind teils geneigt, zwar dem H-Ion die wichtigste Rolle bei der Atmungsregulation zuzuschreiben, daneben aber auch eine spezifische Wirkung der Kohlensäure anzunehmen, die besonders bei verminderter H-Ionenkonzentration zur Geltung kommt. Die *Winterstein*sche Theorie würde danach eine Einschränkung erfahren, daß das Zentrum gegen eine Verminderung der H-Ionenkonzentration weniger empfindlich ist, wie gegen eine Erhöhung derselben. Ein anderer Teil der Autoren glaubt auf Grund der Beobachtungen bei alkalischer Reaktion, daß es überhaupt nicht das H-Ion, sondern immer nur die Kohlensäure sei, die auf das Atemzentrum

---

[1]) *Collip* und *Backus*, Amer. Journ. of Physiol. **51**, 551, 1920.
[2]) *Collip*, ebendaselbst **52**, 483, 1920; **54**, 58, 1920.
[3]) *Mellanby*, Journ. of physiol. proceed. **56**, 38, 1922.
[4]) *Dale* und *Evans*, Journ. of Physiol. **56**, 125, 1922.
[5]) *R. Gesell*, Amer. Journ. of Physiol. **66**, 5, 1923.

wirke vermöge ihrer leichteren Diffundierbarkeit in die Zelle. Sie stützen sich dabei auf Versuche von *Jakobs*[1]), wonach die lebende Zelle nicht permeabel ist für das H-Ion und die Bicarbonationen, während die undissoziierte Kohlensäure leicht in die Zelle eindringt, dort dissoziiert und die H-Ionenkonzentration im Zellinnern erhöht. Einige der erwähnten Versuche sind jedoch zum Teil infolge ihrer Unvollständigkeit nicht überzeugend, da nicht alle Faktoren berücksichtigt werden, die die Atmung beeinflußt haben konnten.

Es war uns nun selbst aufgefallen, daß z. B. Ödemkranke im Stadium der Ödemausschwemmung ihre CO_2-Spannung ziemlich konstant hielten, obwohl der Bicarbonatgehalt des Serums in dieser Periode fortwährend etwas anstieg, so daß die Blutreaktion immer mehr nach der alkalischen Seite verschoben wurde und es den Anschein gewann, als ob nicht die H-Ionenkonzentration, sondern die CO_2-Spannung auf eine bestimmte Höhe reguliert würde. Die Reaktionstheorie allein gibt darauf keine befriedigende Antwort.

Ich habe deshalb selbst einige Versuche über die Atmungsregulation bei alkalischer Blutreaktion angestellt und bediente mich dabei der in einer früheren Mitteilung[2]) angegebenen Versuchsanordnung. Als Versuchstiere dienten wieder Kaninchen in leichter Urethannarkose. Die Blutalkaleszenz wurde erhöht durch die Infusion von Na_2CO_3, $NaHCO_3$ und $NaOH$-Lösungen von verschiedener Konzentration.

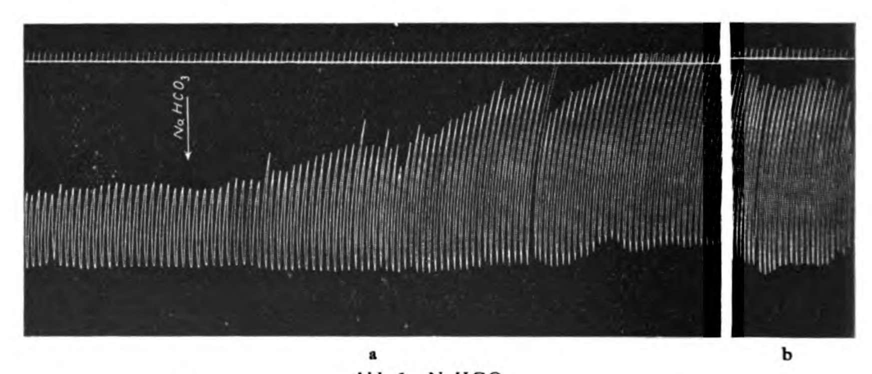


Abb. 1. $NaHCO_3$.
a) vor der $NaHCO_3$-Infusion $p_H = 7{,}36$, CO_2-Spannung = 34. Der Pfeil gibt den Beginn der Infusion an. b) 5 Minuten nach Beginn der Infusion $p_H = 7{,}56$, CO_2-Spannung = 35. Zeitschreibung in Sekunden.

Durch die Infusion von $NaHCO_3$ wurde das CO_2-Bindungsvermögen des Blutes sehr stark erhöht, es stieg z. B. in einem Versuch

[1]) *Jakobs*, Amer. Journ. of Physiol. **51**, 321, 1920.
[2]) *Kl. Gollwitzer-Meier*, diese Zeitschr. 1924. Im Erscheinen.

Tabelle I. $NaHCO_3$.

	Zeit	p_H des arter. Blutes	CO_2-Spannung des arteriellen Blutes	CO_2-Kapazität bei 40 mm	Atemfrequenz pro Minute	Atemtiefe ccm	Minutenvolumen ccm
1. Normal	9h20'	7,36	34	48	48	18	864
Infusion von	9 35						
10 ccm 5proz.	9 36				51	34	1734
Lösung	9 40	7,56	35	78	65	45	2925
2. Normal	9 35	7,21	44,5	41	40	20	800
Infusion von	9 41						
9 ccm 1proz.	9 43				48	40	1920
Lösung							
+ 15 ccm	9 46	7,16	55,5	43,8	60	55	3300
3. Normal	10 00	7,36	37	42	40	17	680
Infusion von	10 08						
10 ccm 5proz.	10 13	7,46	41	70	60	27	1620
Lösung							
4. Normal	9 45	7,25	32,5	36,5	48	18	864
Infusion von	9 50						
22 ccm 5proz.	9 53	7,52	40	82	80	54	4320
Lösung							
5. Normal		7,46	32	53			
Infusion von 11 ccm 5proz. Lösung, sofort nach der Infusion		7,53	39	83			
6. Normal		7,38	28	44,5			
Infusion von 10 ccm 5proz. Lösung, sofort nach der Infusion		7,60	30	78,5			
+ 20 ccm		7,61	29	75			
7. Normal		7,31	29,5	38			
Infusion von 3,5 ccm 5proz. Lösung, sofort nach der Infusion		7,33	32	44			
+ 11 ccm		7,49	37	55,5			

In den Tabellen wird immer nur der Beginn der Infusion angegeben.

von 36,5 auf 82 Vol.-Proz. (bei 40 mm Spannung gemessen). Die CO_2-Spannung des arteriellen Blutes nahm ausnahmslos zu, aber nicht so stark, um die Bicarbonatvermehrung zu kompensieren, die Blutreaktion wurde alkalisch. Fast unmittelbar mit dem Beginn der Infusion setzte eine Zunahme der Atemfrequenz und Atemtiefe ein, das Atemvolumen stieg bis auf den fünffachen Wert des Ausgangsvolumens (s. Abb. 1, Tabelle I). Der beobachtete Einfluß einer $NaHCO_3$-Infusion auf das Säure-Basengleichgewicht stimmt mit den Angaben anderer Autoren

überein. Wenn *Davies*, *Haldane* und *Kennaway*[1]) mitteilen, daß durch Bicarbonat die Blutreaktion kaum beeinflußt und die Atmung verlangsamt wird, so sind diese am Menschen gewonnenen Ergebnisse zum Vergleich nicht heranzuziehen, da das Bicarbonat per os gegeben wurde.

Die Infusionsgeschwindigkeit ist bei diesen Versuchen von Bedeutung, da das $NaHCO_3$ sehr rasch wieder ausgeschieden wird. Infundiert man sehr langsam, so kann ein großer Teil des $NaHCO_3$ bereits wieder durch die Niere entfernt sein, bevor noch die Infusion beendet ist. Nach *Haldane*[2]) kann dabei das $NaHCO_3$ in einer Konzentration von 3 Proz. im Urin erscheinen.

Durch die Infusion von Na_2CO_3 wird das CO_2-Bindungsvermögen des Blutes ebenfalls stark gesteigert, die Blutreaktion wird nach der

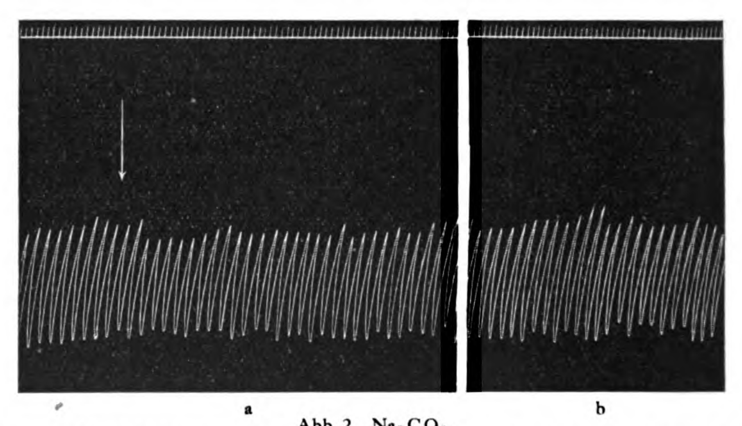


Abb. 2. Na_2CO_3.
a) vor der Na_2CO_3-Infusion $p_H = 7{,}29$, CO_2-Spannung = 31,5. Der Pfeil gibt den Beginn der Infusion an. b) 4 Minuten nach Beginn der Infusion $p_H = 7{,}49$, CO_2-Spannung = 32. Zeitschreibung in Sekunden.

alkalischen Seite verschoben. Die CO_2-Spannung erleidet bei langsamer Infusion keine besonderen Veränderungen, sie war in allen drei Versuchen nahezu dieselbe geblieben. Das Atemvolumen nahm in keinem Versuch zu, sondern eher etwas ab, eine Apnoe trat nicht ein (Abb. 2, Tabelle II).

Es wurde von einigen Untersuchern mitgeteilt, daß die Injektion von Na_2CO_3 eine Apnoe erzeugt. So beobachtete *Hougardy*[3]) nach intravenöser Injektion von Na_2CO_3 und NaOH, nicht aber nach $NaHCO_3$, eine kurzdauernde Apnoe, und ebenso konnte *Mosso*[4]) auf diese Weise Atempausen hervorrufen. Nach *Scott* hängt das Zustandekommen dieser Apnoe lediglich

[1]) *Davies, Haldane* und *Kennaway*, Journ. of Physiol. **54**, 32, 1920.
[2]) *J. B. Haldane*, Lancet **206**, 537, 1924.
[3]) *Hougardy*, Arch. intern. de Physiol. **1**, 17, 1904.
[4]) *Mosso*, Arch. ital. de biol. **42**, 186, 1904.

Tabelle II. Na_2CO_3.

	Zeit	p_H des arter. Blutes	CO_2-Spannung des arteriellen Blutes	CO_2-Kapazität bei 40 mm	Atemfrequenz pro Minute	Atemtiefe ccm	Minutenvolumen ccm
1. Normal	10h02'	7,29	31,5	39	35	15	525
Infusion von 12 ccm 5proz. Lösung							
Beginn der Infusion	10 08						
	10 12	7,49	32	63,5	30	16	480
2. Normal	10 50	7,30	26,5	32	60	18	1080
Infusion von 11 ccm 5proz. Lösung							
Beginn der Infusion	10 52						
	10 55	7,55	25	62	55	18	990
3. Normal	9 15	7,43	26	46	42	16	672
Infusion von 11 ccm 5proz. Lösung							
Beginn der Infusion	9 19						
	9 23	7,70	25,5	74	40	15	600

von der Infusionsgeschwindigkeit ab. Bei rascher Infusion wird plötzlich viel CO_2 gebunden, da das Na_2CO_3 sich zum Teil in $NaHCO_3$ umwandelt, und das apnoeische Stadium tritt infolge des Sinkens der CO_2-Spannung auf. Diese Versuche wurden auch so ausgelegt, daß nicht die Verminderung der Kohlensäure, sondern der H-Ionenkonzentrationen die Apnoe erzeugt hat.

Das Gleichartige der $NaHCO_3$- und Na_2CO_3-Wirkung besteht darin, daß die Blutreaktion alkalischer und der Bicarbonatgehalt größer wird. Der Unterschied besteht in der Größe der CO_2-Spannung und Reaktion des Atemzentrums. Durch die $NaHCO_3$-Infusion wird die CO_2-Spannung und die Atemgröße erhöht, durch die Na_2CO_3-Infusion bleiben beide unverändert. Nach der Reaktionstheorie wäre aber zu erwarten, daß entsprechend der erhöhten Blutalkaleszenz die Atmung abnehmen würde, und zwar sehr erheblich, denn wenn z. B. *Haldane* angibt, daß durch eine Steigerung der H-Ionenkonzentration um 0,12, die Atemgröße verdoppelt wird, so müßte bei einer viel größeren Abweichung der H-Ionenkonzentration nach der alkalischen Seite das Atomvolumen ganz bedeutend reduziert werden.

Die Versuche *Wintersteins*, der Kaninchen NaOH injizierte und dabei eine Abnahme der Atemgröße bei verringerter H-Ionenkonzentration und CO_2-Spannung beobachtete, schienen die Gültigkeit der Reaktionstheorie auch für eine Verschiebung der Blutreaktion nach der alkalischen Seite zu beweisen.

Ich habe in zwei Versuchen n/10 NaOH infundiert und die gleichen Ergebnisse wie *Winterstein* erhalten. Die CO_2-Bindungsfähigkeit des

Blutes nahm etwas zu, die CO_2-Spannung des arteriellen Blutes sank in einem Versuch, blieb im anderen unverändert, die Blutreaktion wurde alkalischer, das Atemvolumen etwas geringer. Diese Versuche für sich allein betrachtet, können nach dem Vorgehen *Wintersteins* so gedeutet werden, daß die Abnahme des Atemvolumens auf dem geringeren Atemreiz, der erhöhten Blutalkaleszenz beruht. Allerdings ist die Abnahme der Ventilationsgröße, verglichen mit der Änderung der H-Ionenkonzentration, sehr gering. Bei Kenntnis der Na_2CO_3- und $NaHCO_3$-Wirkung auf die Atmung könnte aber auch angenommen werden, daß die Alkalose als solche keine Verlangsamung der Atmung hervorruft und die Abnahme der Ventilation nur dann zustande kommt, wenn gleichzeitig auch die CO_2-Spannung verringert wird (s. Tabelle III).

Tabelle III. NaOH.

	Zeit	p_H des arter. Blutes	CO_2-Spannung des arteriellen Blutes	CO_2-Kapazität bei 40 mm	Atemfrequenz pro Minute	Atemtiefe ccm	Minutenvolumen mm
1. Normal	9h00′	7,33	30,5	39	40	13	520
Infusion von 25 ccm n/10 Lösung							
Beginn der Infusion	9 05						
	9 08	7,40	30	48	40	13	520
	9 10	7,38	29	44	42	12	504
2. Normal	10 15	7,24	42	42,5	40	20	800
Infusion von n/10 Lösung							
Beginn der Infusion	10 19						
9 ccm	10 22	7,29	42	47,5	38	16	608
	10 29				38	20	760
+ 6 ccm	10 33				50	14	700
	10 40				40	20	800
+ 5 ccm	10 44	7,27	42	45	38	15	570
	10 50				38	20	760

Weiter habe ich bei alkalischer Blutreaktion infolge vorausgeschickter $NaHCO_3$- oder Na_2CO_3-Infusion HCl infundiert und beobachtete dabei eine ganz bedeutende Zunahme der Atemgröße. Obwohl die Blutreaktion in dem Augenblick der beginnenden Säureinfusion noch stark alkalisch war, setzte sofort eine Hyperpnoe ein, ähnlich der, die eine HCl-Infusion bei normaler Blutreaktion erzeugt. Am Ende der Infusion war die H-Ionenkonzentration noch unter dem von demselben Tier gewonnenen Normalwert. Während der HCl-Infusion stieg in zwei Versuchen die CO_2-Spannung des Blutes, nur in einem Versuche, in dem die Blutentnahme nach länger dauernder

Hyperpnoe erfolgte, war die CO_2-Spannung nicht erhöht gefunden worden. Das CO_2-Bindungsvermögen nahm ab.

Bei der HCl-Infusion konnte die Zunahme der Atmung wieder auf die erhöhte CO_2-Spannung bezogen werden wie in den *Scott*schen Versuchen, bei denen die CO_2-Spannung schon in der Einatmungsluft erhöht war.

Tabelle IV.

HCl-Infusion bei alkalischer Blutreaktion.

	Zeit	p_H des arter. Blutes	CO_2-Spannung des arteriellen Blutes	CO_2-Kapazität bei 40 mm	Atemfrequenz pro Minute	Atemtiefe ccm	Minutenvolumen cmm
1. Normal		7,25	32,5	36,5	28	18	504
$NaHCO_3$ Infusion	10h09'	7,52	40	82	42	18	756
HCl-Infusion n/10	10 02				50	30	1500
14 ccm infund.	10 05	7,27	46	49	76	20	1520
+ 14 ccm	10 08				96	22	2122
	10 12	7,27	43,5	47	60	22	1320
2. Normal		7,36	37	42	40	17	680
$NaHCO_3$-In-	10 13	7,46	41	70	60	27	1620
fusion					50	25	1250
HCl-Infusion	10 15						
n/10	10 16						
4 ccm infund.	10 17	7,38	40	57	67	30	2010
	10 21	7,32	38	50	45	20	900
3. Normal		7,43	26	46	42	16	672
Na_2CO_3-In-	9 23						
fusion	9 24	7,70	25,5	74	40	15	600
HCl-Infusion	9 25						
n/10							
8 ccm infund.	9 27	7,47	32	58	55	34	1540

Nimmt man an, daß die Erregbarkeit des Atemzentrums durch die Alkaliinfusion keine Veränderung erleidet, so kann die Atmungsregulation bei einer Alkalose nur nach dem Vorgehen von *Scott*, *Collip*, *Dale* und *Evans* erklärt werden, daß nämlich die Kohlensäure eine spezifische Reizwirkung auf das Atemzentrum habe. Bleibt dann die Kohlensäurespannung nach dieser Theorie bei einer Alkalose in derselben Höhe wie bei der normalen Reaktion, so erfährt die Atmung keine Veränderung, da der Reiz der gleiche geblieben ist und die Alkalose als solche ohne Einfluß wäre. Verringert man dagegen die CO_2-Spannung, so nimmt der Atemreiz und damit auch die Atemgröße ab. Erhöht man die CO_2-Spannung, gleichgültig von welcher Blutreaktion ausgehend, entweder durch CO_2-Zufuhr oder HCl-Infusion, so nimmt die Ventilationsgröße zu.

Da nun aber bereits ziemlich zwingende Beweise erbracht worden sind, daß bei normaler Reaktion die H-Ionenkonzentration und nicht die Kohlensäure die chemische Atmungsregulation besorgt, so kommt

Scott zu dem Kompromiß, daß das Atemzentrum zwar gegen eine Erhöhung der H-Ionenkonzentration sehr empfindlich sei, aber nicht gegen eine Verminderung derselben. Entweder hat aber die Kohlensäure überhaupt eine spezifische Reizwirkung auf das Atemzentrum, dann ist doch wohl anzunehmen, daß diese auch bei normaler Reaktion vorhanden ist, oder es stellt auch bei alkalischer Blutreaktion die H-Ionenkonzentration den Reiz dar, und die Reaktionstheorie hat auch für eine Verschiebung der Reaktion nach der alkalischen Seite Gültigkeit.

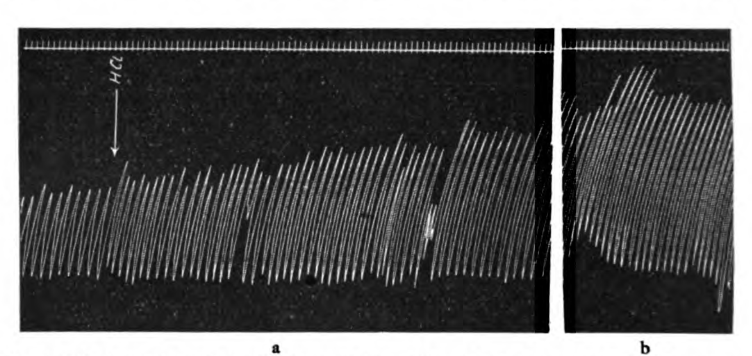


Abb. 3. HCl-Infusion bei alkalischer Blutreaktion. Normalreaktion = 7,43, CO_2-Spannung = 32. a) Alkalose erzeugt durch Na_2CO_3-Infusion. Kurz vor Beginn der HCl-Infusion p_H = 7,70, CO_2-Spannung = 25,5. b) 2 Minuten nach Beginn der HCl-Infusion p_H = 7,47, CO_2-Spannung = 32. Zeitschreibung in Sekunden.

Nun ist jedoch für die Erregung des Atemzentrums zunächst die Reaktion im Zentrum selbst maßgebend, und erst in zweiter Linie die im Blute herrschende. Wenn nun auch zwischen der Reaktion im Zentrum und der im Blut gewisse Beziehungen bestehen, so muß sich doch nicht unter allen Umständen die Reaktion im Zentrum gleichsinnig und im selben Maße wie die im Blute ändern. *Gesell* weist darauf hin, daß die Hyperpnoe bei einer $NaHCO_3$-Alkalose mit der leichteren Diffundierbarkeit der undissoziierten Kohlensäure, die ja in vermehrter Menge vorhanden ist, ins Gewebe erklärt werden könnte, wodurch im Atemzentrum das Verhältnis zwischen freier und gebundener Kohlensäure derartig verändert wird, daß die Konzentration der H-Ionen höher als im Blute wird, und so eine Hyperpnoe bei noch alkalischer Blutreaktion ausgelöst werden kann. Diese Theorie reicht aber nicht aus, das Fehlen einer Atmungsveränderung bei der Na_2CO_3-Alkalose zu erklären oder die Ventilationssteigerung durch eine HCl-Infusion bei erhöhter Blutalkaleszenz.

Es besteht nun zwischen der Größe der H-Ionenkonzentration und der Ventilation ein gewisser Parallelismus nur bei sonst ganz gleichen Bedingungen, denn das Atemzentrum reagiert nicht nur auf Änderungen des Säure-Basengleichgewichts, sondern auch auf Änderungen des

Kationengleichgewichts. Der Reiz, den eine bestimmte H-Ionenkonzentration im Blut auf das Atemzentrum ausübt, wird bestimmt durch die Gesamtheit aller übrigen Ionen, vor allem durch die Kationen. Es wurde dies so formuliert[1]), daß die Erregbarkeit des Atemzentrums durch H-Ionen von der Größe eines bestimmten Ionenquotienten abhängig ist. Wird dieser Quotient verändert, so wird auch die Reizwirkung einer gewissen H-Ionenkonzentration auf das Atemzentrum geändert. Erhöht man durch eine Alkaliinfusion die Blutalkaleszenz, so kann man eine Abnahme der Ventilationsgröße entsprechend der verminderten H-Ionenkonzentration nur dann erwarten, wenn der Ionenquotient unverändert bleibt, der die Empfindlichkeit des Atemzentrums für H-Ionen bestimmt. Nach früheren Ausführungen wird aber durch eine Alkalose bei gleichzeitiger Erhöhung des Bicarbonatgehaltes im Blute auch das Kationengleichgewicht im Blute beeinflußt, während z. B. eine Überventilationsalkalose eine derartige Veränderung nicht, oder nur in nur geringem Maße hervorruft. Die Störung im Kationengleichgewicht bei der Carbonatalkalose scheint aber nach den bisherigen allerdings spärlichen Versuchen vor allem zu einer Verminderung der Ca-Konzentration im Blute zu führen, die bei einer Überventilationsalkalose nicht beobachtet wird [*Grant* und *Goldmann*[2]), *György* und *Vollmer*[3]), *Gollwitzer-Meier* und *Meyer*[4])]. Danach nimmt wahrscheinlich die Erregbarkeit des Atemzentrums bei der Carbonatalkalose zu. Für die Veränderung der Erregbarkeit des Atemzentrums bei alkalischer Blutreaktion ist also weniger die Alkalose als solche, als vielmehr die Art ihrer Entstehung von Bedeutung. Der Einfluß auf die Erregbarkeit des Atemzentrums kann ganz verschieden sein, auch wenn die Reaktion in gleichem Ausmaß verschoben wird.

Geht man von der Annahme aus, daß durch die Erhöhung der Blutalkaleszenz und des Bicarbonatgehaltes die Erregbarkeit des Zentrums gesteigert wird, so kann die Atemtätigkeit bei alkalischer Reaktion auch mit der Reaktionstheorie in Einklang gebracht werden. Die Atmung braucht nicht verändert zu werden, wenn in dem Maße, wie die H-Ionenkonzentration abnimmt und der Bicarbonatgehalt steigt, die Erregbarkeit des Atemzentrums zunimmt. Solange die Kationengleichgewichtsstörung besteht, die einen Einfluß auf die Erregbarkeit des Atemzentrums gewonnen hat, wird auf das Zentrum eine geringere H-Ionenkonzentration einen ebensolchen Reiz ausüben wie die höhere H-Ionenkonzentration auf das weniger erregbare Zentrum. Dabei ist, wie unter

[1]) *Kl. Gollwitzer-Meier*, l. c.
[2]) *Grant* und *Goldmann*, Amer. Journ. of Phys. **52**, 209, 1920.
[3]) *György* und *Vollmer*, diese Zeitschr. **140**, 391, 1923.
[4]) *Gollwitzer-Meier* und *E. Meyer*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **40**, 70, 1924.

normalen Bedingungen, so auch bei einer Alkalose, eine ganz bestimmte H-Ionenkonzentration für eine gewisse Größe der Ventilation erforderlich. Wird diese H-Ionenkonzentration, die auf ein viel niedrigeres Niveau eingestellt ist als der Norm entspricht, noch mehr verringert oder erhöht, so wird der Erfolg ein ähnlicher sein, als wenn man bei weniger erregbarem Zentrum die entsprechende H-Ionenkonzentration verringert oder erhöht: die Atmung wird ab- oder zunehmen. Also kann auch bei einer Alkalose eine Erhöhung der Kohlensäurespannung im Blute durch Änderung der H-Ionenkonzentration zur Hyperpnoe führen.

Mit Hilfe dieser Überlegungen stehen die Beobachtungen bei alkalischer Blutreaktion nicht im Widerspruch mit der Reaktionstheorie. Es muß nur außer dem Säure-Basengleichgewicht auch ein Kationengleichgewicht im Blute eine Mitberücksichtigung erfahren.

Zusammenfassung.

Na_2CO_3 und $NaOH$ beeinflussen bei langsamer Infusion die CO_2-Spannung des arteriellen Blutes kaum, die Atmung bleibt trotz stark alkalischer Blutreaktion nahezu unverändert. Eine Infusion von $NaHCO_3$ erhöht zwar ebenfalls die Blutalkaleszenz, aber auch die CO_2-Spannung im Blute und die Ventilationsgröße. Infundiert man bei einer Alkalose infolge vorausgeschickter Na_2CO_3-Infusion HCl, so tritt eine Atemsteigerung auf, ähnlich der, die eine HCl-Infusion bei normaler Reaktion erzeugt.

Die Versuche scheinen darauf hinzuweisen, daß die Alkalose selbst ohne Einfluß auf die Atmung ist, während jede Änderung der CO_2-Spannung auch die Ventilationsgröße verändert. Nun ist jedoch der Reiz, den eine bestimmte H-Ionenkonzentration auf das Zentrum ausübt, von der Größe eines bestimmten Ionenquotienten abhängig, der somit die Empfindlichkeit des Atemzentrums für H-Ionen beeinflußt. Dieser Quotient wird bei einer durch Alkaliinfusion erzeugten Alkalose wahrscheinlich derartig verändert, daß eine Zunahme der Erregbarkeit des Atemzentrums angenommen werden kann. Die Bedeutung der H-Ionenkonzentration für die Atmungsregulation ist bei alkalischer Blutreaktion die gleiche wie bei normaler Reaktion, nur kann infolge einer erhöhten Erregbarkeit des Atemzentrums der für eine normale Atemtätigkeit erforderliche H-Ionenspiegel ein anderer sein.

Die Arbeit wurde mit Unterstützung der Rockefeller-Foundation ausgeführt, für die ich auch hier bestens danke.

Zur Kenntnis der Glucosane.

Nachtrag zu der früheren[1]) Mitteilung.

Von

Johannes Kerb und Elisabeth Kerb-Etzdorf.

(Eingegangen am 8. August 1924.)

In unserer früheren Mitteilung hatten wir dargelegt, daß Anhydride des Frucht- und Traubenzuckers zuerst 1859 bzw. 1860 von *Gélis* beschrieben, als Lävulosan bzw. Glucosan bezeichnet und wohl von den eigentlichen Caramelsubstanzen unterschieden wurden.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit sprechen nun *E. Grafe* und *Erica von Schröder*[2]) bei Beschreibung von Versuchen mit Lävoglucosan von der Wirkungsweise des „Caramels" und zitieren einige Arbeiten des oben erwähnten französischen Chemikers[3]), in denen die Substanzen Caramelan, -len und -lin beschrieben sein sollen. Da uns aus dem Originaltext dieser Arbeiten bekannt war, daß dort von oben erwähnten Caramelsubstanzen überhaupt nicht die Rede ist, hielten wir eine Berichtigung für notwendig.

Caramelan usw. sind bereits 1858 von *Gélis*[3]) beschrieben worden. Diese Körper besitzen nicht die Zusammensetzung $C_6H_{10}O_5$ bzw. $(C_6H_{10}O_5)x$, sondern sind sämtlich wasserärmer. Sie sind nicht durch Hydrolyse wieder in Zucker überzuführen, welchen Unterschied von den Glucosanen *Gélis*[4]) in einer späteren Zusammenstellung ausdrücklich betont. Der Irrtum von *Grafe* und von *Schröder* beruht wahrscheinlich auf der falschen Angabe eines Lehrbuches. Z. B. gibt *Tollens* Kohlenhydrate (1914, S. 389) tatsächlich für Glucosan und Caramelan usw. dieselben Literaturstellen an.

---

[1]) Diese Zeitschr. **144**, 60, 1924.

[2]) Arch. f. klin. Med. **144**, Heft 3.

[3]) C. r. **48**, 1062; **51**, 331; Ann. Chim. (3) **57**, 234.

[4]) Ann. Chim. (3) **52**, 352; **65**, 496. — Anmerkung: In einer neuerdings erschienenen Arbeit von *Pictet* (Helv. **7**, 710) werden die alten Beobachtungen von *Gélis* über Caramelan usw. durchaus bestätigt, dergleichen unsere Beobachtung über Bildung eines Anhydridgemisches aus dem Rohrzucker.

Jedenfalls sind die ausnutzbaren Bestandteile der früher von *Grafe* benutzten „Caramele" Glucosane. Es wäre auch völlig unverständlich, daß die unverzuckerbaren Caramelsubstanzen im Körper völlig verbrannt werden könnten.

Noch ein weiterer Irrtum befindet sich bei den oben erwähnten Autoren. Aus dem Rohrzucker hat *Gélis* das Lävulosan abgespalten, nicht das Lävoglucosan. Infolgedessen haben auch die früheren „Caramel"arbeiten von *Grafe* nichts mit dem Lävoglucosan zu tun. Auch die Darstellung des Lävoglucosans ist nicht mit der Bildung von α-Glucosan zu vergleichen, wie es in der Arbeit von *Grafe* und von *Schröder* geschieht. Während es sich im letzteren Falle um Abspaltung von einem Molekül Wasser aus einem Molekül Glucose handelt, wird bei der Darstellung des Lävoglucosans der Komplex des Stärke- oder Cellulosemoleküls gesprengt und das monomolekulare β-Anhydrid, vielleicht in Stärke und Cellulose bereits als solches enthalten, destilliert im Vakuum über. In unserer früheren Mitteilung haben wir dargelegt, daß uns der Gedanke kam, das Lävoglucosan bzw. seine Polymeren in hocherhitzten Mehlen und Gebäcken zu suchen, deren relativ gute Bekömmlichkeit für Diabetiker ja seit langem bekannt war. Für das monomolekulare Lävoglucosan konnten wir die Unrichtigkeit dieser Annahme schon darlegen, auch das Tetralävoglucosan konnten wir in hocherhitzten Stärkemehlen bisher noch nicht nachweisen. Die noch höheren Polymeren Hexa- und Oktalävuglucosane sollen nach *Pictet*[1]) nur bei höheren Drucken entstehen.

Die von *Grafe* und von *Schröder* gefundene Nichtvergärbarkeit von Lävoglucosan durch Koli haben wir ebenfalls in unserer vorigen Mitteilung schon erwähnt.

Was das beim Erhitzen der Glucosane entstehende Produkt anbetrifft, so bedürfen die Angaben *Pictets*[2]) einer dringenden Korrektur.

Karrer[3]) und *Brigl*[4]) fanden bereits, daß sich die Darstellung des monomolekularen α-Glucosans unter den von *Pictet* angegebenen Bedingungen nicht reproduzieren läßt.

Uns war in einigen Versuchen mit kleinen Mengen unter gewissen Kautelen die Darstellung der von *Pictet* beschriebenen Kristalle gelungen. Später stellten wir größere Quantitäten Glucosan zu klinischen Versuchen dar, wobei wir naturgemäß schon der Kostspieligkeit wegen auf das Umkristallisieren verzichten mußten und nur Wert auf ein zuckerfreies therapeutisch brauchbares Präparat legten. Die genaue Nachprüfung dieser Präparate ergab aber, daß auch aus dem aller-

---

[1]) C. **1922**, III, 346.
[2]) Helv. **3**, 645; **4**, 613.
[3]) Helv. **6**, 399.
[4]) H. **122**, 256, 1922.

reinsten Traubenzucker unter *Pictets* Bedingungen auch ohne jedes Kondensationsmittel Polymere bis zum vierfachen Molekül entstehen. Die Annahme *Brigls*[1]) konnten wir also bestätigen. Wir gedenken später ausführlich darüber zu berichten. Auch die Karamose von *Merck* ist ein polymeres Produkt. Therapeutisch ist dieser Umstand von Bedeutung, weil diese Substanzen völlig kochbeständig sind.

Gegenüber den Blutzuckerbestimmungsmethoden zeigen die polymeren α-Glucosane ein unterschiedliches Verhalten. Nach der Bangmikromethode zeigen 0,1- bis 0,2proz. Lösungen überhaupt keine Reduktion. Nach der *Benedict-Lewis*schen kolorimetrischen Pikrinsäuremethode zeigen sie eine Reduktionskraft von etwa einem Viertel bis einem Drittel der gleichen Glucosemengen. Über inzwischen ausgearbeitete Methoden zur Bestimmung der Glucosane berichten wir später.

Das von *Grafe* und von *Schröder* gefundene Absinken des Blutzuckers nach Lävoglucosan ist nicht charakteristisch für diese Substanz. Wir berichteten bereits über dieselbe Beobachtung nach dem von uns benutzten Glucosanpräparat (wie sich herausstellte, war es Tetraglucosan).

Im übrigen möchten wir betreffs unserer Auffassung von der Glucosanwirkung auf die zurzeit im Druck befindliche Arbeit des einen von uns in der Zeitschrift für die ges. experimentelle Medizin hinweisen.

---

[1]) l. c.

Über einen neuen porphyrinartigen Bestandteil normaler menschlicher Fäzes.

Von

D. Kémeri.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der königl. ung. Universität, Budapest.)

(Eingegangen am 8. August 1924.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die Frage der natürlichen Porphyrine wurde durch die grundlegenden Arbeiten von *Hans Fischer*[1]) einerseits und von *O. Schumm*[2]) andererseits um einen mächtigen Schritt vorwärts gebracht, und kann es heute als feststehend angesehen werden, daß im menschlichen Körper weder Hämato- noch aber Mesoporphyrin gebildet werden, sondern im Darm unter physiologischen Umständen nur *Koproporphyrin*, $C_{36}H_{36}N_4O_8$ (das als solches in den Harn übergeht), unter pathologischen Umständen meistens ebenfalls nur Koproporphyrin, und nur in Fällen von sogenannter kongenitaler Porphyrinurie kommt es zur Bildung und Ausscheidung des sogenannten *Uroporphyrins*, $C_{40}H_{36}N_4O_{16}$, im Harn.

Doch ist die Frage mit diesen bedeutungsvollen Feststellungen noch lange nicht erledigt. Denn in rascher Folge wurden immer neuere von den oben genannten sowohl wie auch voneinander mehr oder minder gut unterscheidbare Porphyrine in verschiedenen tierischen Organen und Säften aufgefunden, so daß das Tatsachenmaterial zurzeit ein sehr kompliziertes und wenig übersichtliches ist.

Durch den *Fischer*schen Vorschlag[3]), die Porphyrine in Form ihrer Methyl- und Äthylester zu isolieren, und sie in dieser Form zu agnoszieren bzw. die reinen Porphyrine aus den Estern in freiem und nunmehr reinem Zustande zu erhalten, sowie durch die meisterhaft entwickelte spektrometrische und spektrographische[4]) Technik von *Schumm*, ist wohl der aussichtsvolle Weg gezeigt, wie jenes Tatsachenmaterial gesichtet und wie weiter geforscht werden könnte. Und doch ist es leider sehr erschwert, diesen Weg zu betreten, einzig aus dem Grunde,

---

[1])[2]) Überwiegend in den letzten Jahrgängen von H.

[3]) *Hans Fischer*, H. **95**, 34, 1915.

[4]) *O. Schumm* im Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden **6**, 389.

weil die Porphyrine, soweit es sich um physiologische Produkte handelt, für gewöhnlich nur in äußerst geringen Mengen im Kote (im Harn, im Serum) enthalten sind, und weil das Unterfangen, sie in größeren zur Analyse geeigneten Mengen herzustellen, noch ehe es angegangen würde, wenigstens hierzulande von vornherein an dem Kostenpunkte zu scheitern verurteilt ist.

Aus diesem Grunde war es mir nicht möglich, das in der Aufschrift dieser Mitteilung angekündigte neue Porphyrin wirklich chemisch rein oder in Form seiner Ester darzustellen und alle seine Eigenschaften endgültig festzustellen. Ich muß mich darauf beschränken, mitzuteilen, wie der neue Farbstoff in annähernd reiner Lösung erhalten werden kann, und welches seine spektralen Merkmale sind.

Zu dem neuen Farbstoff bin ich im Verlaufe von Untersuchungen gekommen, die eigentlich ausgeführt wurden, um zu entscheiden, ob Koproporphyrin auch wirklich, wie *Fischer* und *Schneller*[1]) sagen, „... nahezu in jedem, vielleicht in jedem normalen Kote enthalten ist". Meine Untersuchungen ergaben, daß dies wirklich der Fall ist. Daß aber der von mir in den normalen Fäzes nie vermißte und als Koproporphyrin angesprochene Farbstoff auch wirklich Koproporphyrin ist, soll nachfolgend unter A gezeigt werden.

A. Koproporphyrin in normalen Fäzes.

Ich habe Kot von Personen, die, Fleisch inbegriffen, gemischte Kost genossen hatten, nach der *Fischer*- und *Schaumann*schen[2]) Eisessigäthermethode verarbeitet. Frischer, in einigen Fällen auch getrockneter und pulverisierter Kot wird mit dem halben Volumen Alkohol und dem gleichen Volumen Äther verrieben, nach einigem Stehen filtriert, der Rückstand mit einem Gemisch, bestehend aus dem gleichen Volumen Äther und $1/4$ bis $1/2$ Volumen Eisessig verrieben, filtriert, das Filtrat mit Wasser essigsäurefrei gewaschen, und dies so lange fortgesetzt, bis das Waschwasser sich nunmehr beinahe farblos vom Äther trennt. Nun wird der Äther mit 5proz. Salzsäure unterschichtet und geschüttelt, worauf der Farbstoff sofort mit braunroter Farbe in die Säureschicht übergeht. Die saure Lösung wird jetzt so lange mit verdünnter Natronlauge versetzt, bis sie Kongo nicht mehr bläut, es wird essigsaures Natrium in konzentrierter Lösung hinzugefügt und mit Äther ausgeschüttelt, worauf der Farbstoff wieder in den Äther übergeht. Dieser Vorgang wird abwechslungsweise wiederholt und dabei konstatiert, daß das vierbandige Spektrum der blaß braunroten ätherischen bzw. das zweibandige Spektrum der salzsauren Lösung immer schärfer und schärfer zu sehen ist und die Lage der Maxima sich nicht mehr ändert.

[1]) *Fischer* und *Schneller*, H. 130, 302, 1923.
[2]) *Fischer* und *Schaumann*, H. 128, 162, 1923.

Die Bestimmung der Absorptionsmaxima habe ich bei Gasglühlicht an einem *Bunsen*- und *Kirchhoff*schen Prismenspektroskop ausgeführt, dessen Orientierungsskala vorangehend sorgsam kalibriert war. Daß die an diesem Apparate erhobenen Befunde richtig sind, geht aus einer Reihe von vergleichenden Bestimmungen an Kaliumpermanganatlösungen hervor, an denen auch ich beteiligt war, und deren Ergebnisse von *Helene Gombos*[1]) mitgeteilt wurden. Die Übereinstimmung dieser von mehreren Beobachtern erhobenen Befunde, die zudem noch durch Ablesungen an einem *Zeiss*schen Gitterspektroskop kontrolliert wurden, leisten genügende Gewähr für die Richtigkeit meiner auf das Koproporphyrin (sowie auf das weiter unten zu behandelnde Porphyrin) bezüglichen Daten.

Nachstehend ist die Lage der Absorptionsmaxima, richtiger die Mitte der Absorptionsstreifen, wie sie in den reinsten Lösungen meiner Präparate sichtbar waren, zusammengestellt, und sind des Vergleiches halber auch die Werte verzeichnet, die *Fischer* und *Schneller*[2]) einerseits, *Schumm*[3]) andererseits an ihren Präparaten erhielten.

a) In Äther, μμ.

Fäzes-Nr.	I	II	III	IV
1	623	574	529	495
2	622	574	529	496
3	623	574	532	498
4	623	574	532	499
9	622	577	531	497
11	623	577	531	496
12	624	577	533	499
18	623	577	535	500
19	622	575	532	(492?)
Mittelwerte	623	575 1/2	531 1/2	497 1/2
Fischer u. *Schneller* .	623,7	571,2	528,5	498,6

Berücksichtigt man, daß das von mir untersuchte Koproporphyrin keinen Anspruch auf chemische Reinheit erheben kann, so ist die Übereinstimmung mit den *Fischer*- und *Schneller*schen Werten am ersten Streifen eine sehr gute, auch am vierten Streifen recht gut, am wenigsten befriedigend am zweiten Streifen.

Im Besitze meiner im Absatz B dieser Mitteilung erörterten Erfahrungen könnte als Ursache dieser Unstimmigkeit in Erwägung gezogen werden, daß meine Koproporphyrinlösungen vielleicht durch ein chloroformlösliches Porphyrin verunreinigt seien. Daher habe ich das in der beschriebenen Weise gereinigte Koproporphyrin aus der ätherischen Lösung wieder in Salzsäure überführt, diese Lösung mit Chloroform ausgeschüttelt, dann

[1]) *Helene Gombos*, diese Zeitschr. **151**, 7, 1924.
[2]) *Fischer* und *Schneller*, H. **130**, 302, 1923.
[3]) *O. Schumm*, H. **98**, 162, 1916.

neutralisiert und den Farbstoff wieder in Äther zurückgeführt. In dieser Lösung ergaben sich folgende Maxima:

Fäces-Nr.	I	II	III	IV
15	622	577	533	496
16	622	577	536	496
17	622	577	538	496
18	622	577	533	494
19	622	576	530	494
Mittelwerte	**622**	**577**	**534**	**495**

Die Übereinstimmung mit den *Fischer*- und *Schneller*schen Werten ist also keine bessere, ja stellenweise eine schlechtere geworden.

Diese Unstimmigkeiten rühren, wie gesagt, zum größten Teile sicher davon her, daß ich nicht nach chemischen Prinzipien gereinigtes Kopro-porphyrin in Händen gehabt habe, zum Teil dürfte sie aber durch folgenden Umstand bedingt sein.

An einzelnen Präparaten ist es mir ohne besondere Mühe gelungen, den sogenannten zweiten Streifen und seine Umgebung in mehrere Unterabteilungen zerlegt zu beobachten. Ob es die Konzentration der Lösung war, oder die Lichtquelle, die ich in diesen Fällen günstiger als in anderen getroffen habe, vermag ich nicht anzugeben. Der zweite Streifen bestand in diesen Fällen aus einem rotwärts gelegenen breiten, mäßig dunklen Vorschatten, an den sich violettwärts ein schmaler, dunkler Streifen anschloß. Rotwärts von dem so zusammengesetzten zweiten Streifen, etwa in mittlerer Entfernung zwischen ihm und dem immer deutlichen ersten Streifen war ein ganz schmaler, aber dunkler Streifen zu sehen; zwischen diesem und dem zweiten Streifen war das Feld etwas verdunkelt. Es folgten also einander (nach dem immer sehr deutlichen ersten Streifen): Ein schmaler Streifen (in der Abb. 1 sind seine Ränder mit *a* und *b* bezeichnet); ein etwa 7 $\mu\mu$ breiter schwacher Vorschatten (zwischen *b* und *c*); ein etwa 15 $\mu\mu$ breiter dunklerer Vorschatten (zwischen *c* und *d*); endlich ein etwa 4 $\mu\mu$ breiter Streifen (zwischen *d* und *e*).

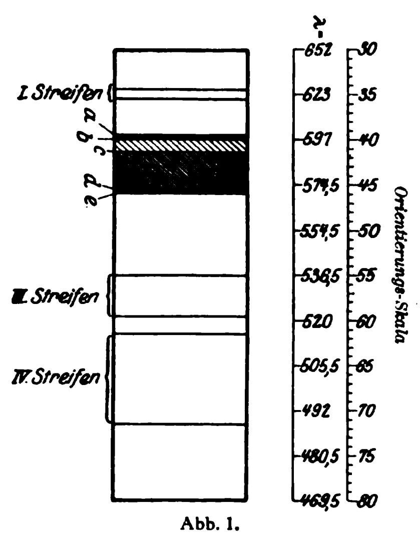


Abb. 1.

Die beiden Ränder (*a* und *b*) des rotwärts gelegenen schmalen Streifens konnte ich nur in einem einzigen Versuche (s. die Abbildung)

genau ablesen, in allen anderen entweder bloß den rotwärts gelegenen Rand (*a*) oder aber die Mitte zwischen *a* und *b*. Diese Ablesungen, sowie die von *c*, *d* und *e* sind nachfolgend zusammengestellt:

Fäzes-Nr.	*a*	*a* bis *b* Mitte	*b*	*c*	*d*	*e*
1	607	—	—	—	—	—
2	—	597	—	583	570	567
3	—	596	—	583	570	566
4	—	598	—	—	—	—
5	—	600	—	—	—	—
9	—	597	—	—	—	—
14	607	—	—	588	570	566
18	602	—	—	588	570	566
19	602	—	595	586	570	566
Mittelwerte . .	**605**	**598**	**595**	**586**	**570**	**566**

Nun werden die schmalen Streifen *a* bis *b*, das schwach verdunkelte Feld *b* bis *c*, sowie auch der schmale Streifen *d* bis *e* von den Autoren kaum beschrieben und auch ich habe sie, wie erwähnt, nicht immer gesehen. Dann ist es aber auch klar, daß, je nachdem einer oder ein anderer dieser Vorschatten überhaupt bemerkbar ist oder nicht, bzw. ob er bei der Berechnung der Streifenmitte berücksichtigt wird oder aber nicht, sich für letztere ein etwas verschiedener Wert ergeben muß.

So bemerken auch *Fischer* und *Schneller* zu ihrer Tabelle[1]): „Stets wurde die Streifenmitte so bestimmt, daß als Beginn und Ende des Streifens die stärkste Beschattung angenommen wurde. Oft war eine Vorbeschattung vorhanden; wo diese berücksichtigt ist, ist dies als zweite Streifenmitte in Klammern gesetzt“. In meiner obigen Zusammenstellung beträgt die mittlere Entfernung zwischen *a* und *c* 595 ½ $\mu\mu$. Diese Spektralstelle könnte der von *Fischer* und *Schneller* sogenannten zweiten Streifenmitte entsprechen, die von diesen Autoren für Koproporphyrin bei 597,3 $\mu\mu$ gefunden wurde.

b) In salzsaurer Lösung, $\mu\mu$.

Fäzes-Nr.	In 5proz. HCl					In 25proz. HCl				
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
2	590	—	548	—	—	—	—	—	—	—
3	594	—	549	—	—	—	—	—	—	—
9	593	—	553	—	—	—	—	—	—	—
11	593	—	550	—	—	—	—	—	—	—
12	593	—	551	—	—	—	—	—	—	—
18	596	—	553	—	—	598	—	554	—	—
19	593	—	549	—	—	596	—	553	—	—
Mittelwerte . . .	**593**	—	**550**	—	—	**597**	—	**553½**	—	—
Fischer u. *Schneller*[2])	590,4	—	547,5	—	—	—	—	—	—	—
Schumm[3])	—	—	—	—	—	593,1	573,5	549,9	524,5	509,3

[1]) *Fischer* u. *Schneller*, H. 130, 324, 1923. — [2]) H. 130, 324, 1923. — [3]) H. 98, 171, 1916.

Um daher einen Vergleich mit den fremden Daten überhaupt zu ermöglichen, habe ich bei der Berechnung der Mitte des zweiten Streifens nur die Strecke *c* bis *e* in Betracht gezogen, auch die wenig deutlichen Vorschatten am dritten und vierten Streifen vollkommen übergangen.

In der salzsauren Lösung ist also die Übereinstimmung mit den *Fischer*- und *Schneller*schen Werten sowohl wie mit den *Schumm*schen weniger gut als in der ätherischen Lösung.

Die mit Chloroform ausgeschüttelten salzsauren Lösungen ergaben folgende Werte:

Fäzes-Nr.	In 5proz. HCl		In 25proz. HCl	
	I	III	I	III
14	593	551	593	551
15	595	556	—	—
16	593	551	595	551
17	593	551	595	554
18	594	553	595	554
19	593	549	596	553
Mittelwerte	$593^1/_2$	552	595	$552^1/_2$

Durch das Ausschütteln mit Chloroform wurde also keine wesentlich bessere Übereinstimmung erzielt.

Es kann trotz der geringen Unstimmigkeiten in den ätherischen, der größeren in den salzsauren Lösungen nicht daran gezweifelt werden, daß das Porphyrin, das ich aus den untersuchten Fäzes erhielt, Koproporphyrin war, wenn ich auch nicht in der Lage war, es durch Überführung in den Ester zu identifizieren bzw. nach Verseifung des Esters in chemisch reinem Zustande zu prüfen. Dann ist es aber auch erwiesen, daß der porphyrinartige Körper, den ich aus normalen Fäzes neben dem Koproporphyrin erhielt, und der in seinen Eigenschaften sich scharf von Koproporphyrin unterscheidet, nichts mit diesem zu tun hat. Über dieses Porphyrin soll nachstehend unter B berichtet werden.

B. Das neue Porphyrin.

Darstellung. Der mit Alkoholäther extrahierte menschliche Kot gibt, wie unter A erwähnt, das Koproporphyrin an das Eisessigäthergemisch, und dieses, nachdem es von der Essigsäure frei gewaschen ist, an 5proz. Salzsäure ab. Durch zwei- bis dreimal wiederholtes Schütteln des Äthers mit Salzsäure lassen sich noch weiterhin sehr geringe und abnehmende Mengen von Koproporphyrin gewinnen, dann aber nicht mehr. Dies ist daran zu erkennen, daß sich die salzsaure Schicht nicht mehr wie bisher bläulichrot färbt, sondern nunmehr ungefärbt vom Äther trennt. Läßt man aber den anscheinend erschöpften Äther mit der darunter geschichteten Salzsäure 6 bis 7 Stunden lang stehen, *so wird*

man an gewissen Fäzes nach Ablauf dieser Zeit überrascht sein, zu sehen, daß sich die salzsaure Schicht wieder intensiv bläulichrot gefärbt hat. Man möchte meinen, daß es weiteres Koproporphyrin ist, das man auf diese Weise gewonnen hat, wird aber bald eines Besseren belehrt. Denn wird die salzsaure Flüssigkeit mit essigsaurem Natrium versetzt, verdünnte Natronlauge hinzugefügt und mit Äther geschüttelt, so färbt sich letzterer in dem Maße, wie tropfenweise mehr und mehr Lauge hinzugefügt wurde, erst blauviolett, dann grünblau, und endlich *rein grün.* Es handelt sich also nicht um Koproporphyrin, sondern um einen — wir wollen zunächst nur sagen — anderen Farbstoff.

Das erste, woran man beim Erhalten eines grüngefärbten ätherischen Extraktes aus Menschenfäzes denken muß, ist natürlich Chlorophyll, zumal in den von mir untersuchten Fällen der Genuß von grünem Gemüse *nicht* ausgeschlossen war. Um keinerlei Zweifel darüber walten zu lassen, ob ich es mit Chlorophyll zu tun habe oder nicht, habe ich als Gemüse zubereiteten Spinat genau nach der *Fischer-* und *Schaumann*schen Eisessigäthermethode behandelt und in der so erhaltenen grüngefärbten ätherischen Lösung die Lage der Absorptionsmaxima bestimmt. Nachfolgend sind die von mir hierbei erhobenen Befunde zusammengestellt, daneben des Vergleiches halber auch die Maxima verzeichnet, die bezüglich eines alkoholischen oder ätherischen Fäzesextraktes (nach Genuß chlorophyllhaltiger Speisen) von *Neuberg*[1]) angegeben wurden:

Meine Ablesungen $\mu\mu$	*Neuberg* (Gitterspektroskop) $\mu\mu$	*Neuberg* (Prismenspektroskop) $\mu\mu$
665	662	661
609	607	608
561	560	563
—	540	538
508	509	—
478	478	—
450	452	—

Die Übereinstimmung ist, wie ersichtlich, stellenweise vorzüglich, im allgemeinen recht gut. Vergleicht man aber diese Maxima mit jenen, die der grünen ätherischen Lösung des von mir gefundenen Farbstoffs eigen sind (s. weiter unten), so kann kein Zweifel darüber bestehen, daß es sich hier nicht um Chlorophyll handeln kann. Hiergegen spricht auch der gewichtige Umstand, daß Chlorophyll aus seiner ätherischen

[1]) *C. Neuberg,* Der Harn usw. 2, 1209.

Lösung *nicht* in wässerige Salzsäure überführt werden kann, während dies an meinem Farbstoffe in demselben hohen Grade der Fall ist, wie an anderen Porphyrinen.

Es könnte aber auch sein, daß mein Farbstoff nichts anderes als ein Umwandlungsprodukt des Chlorophylls sei, aus diesem unter Einwirkung von Verdauungsfermenten bzw. gewisser Gärungs- und Fäulniserreger hervorgegangen. Um dies zu entscheiden, habe ich Fäzes nach reichlichem Genuß von Spinat und Sauerampfer nach der *Fischer*- und *Schaumann*schen[1]) Methode verarbeitet und konstatieren können, daß aus diesen an Chlorophyll überreichen Fäzes nicht mehr vom neuen Farbstoff gewonnen werden konnte als aus Fäzes nach vollständiger Enthaltung von Gemüsen.

Auch *Snapper*[2]) fand „... in den Fäzes von Menschen mit gesundem Magen und Darm, die chlorophyllhaltige aber hämoglobinfreie Diät erhielten, nie Porphyrinspektra vor".

Eigenschaften des neuen Farbstoffes. Eine wichtige Eigenschaft des neuen Farbstoffs ist, wie bereits vorangehend ausgeführt, die, daß er in salzsaurer Lösung bläulichrot gefärbt ist, ähnlich wie das Koproporphyrin, nach dem Abstumpfen der Säure aber mit *grüner Farbe in Äther* übergeht, während Koproporphyrin dies mit braunroter Farbe tut.

Eine zweite Eigenschaft, wodurch sich mein Farbstoff von Koproporphyrin, Uroporphyrin usw. unterscheidet, mit einigen neu beschriebenen Porphyrinen, wie dem von *Papendieck*[3]) in normalen Fäzes neben Koproporphyrin aufgefundenen, oder von *Schumm*[4]) aus Fleisch dargestellten aber übereinstimmt, ist, daß er *aus der salzsauren Lösung auch in Chloroform überführt* werden kann. Die so entstehende Lösung hat einen bläulichroten, mehr Blau enthaltenden Farbenton, während das von *Schumm* aus Fleisch hergestellte Porphyrin sich in Chloroform mit *grüner*[5]) Farbe löst.

Am wichtigsten ist das *spektrale Verhalten* des Farbstoffs. Um das Spektrum konstant und daher charakteristisch zu erhalten, muß die grüne ätherische Lösung oft, bis zu zehn- bis zwölfmal, mit destilliertem Wasser gewaschen und der Farbstoff wiederholt in Salzsäure und aus dieser wieder in Äther überführt werden. Über diese Absorptionsmaxima erhalten wir aus nachstehender Zusammenstellung Aufschluß, in der des besseren Vergleiches halber auch die Maxima des Koproporphyrins angeführt sind.

---

[1]) l. c.

[2]) *J. Snapper*, Arch. f. Verdauungskrankheiten **25**, 237, 1919.

[3]) Siehe weiter unten.

[4]) *O. Schumm*, H. **183**, 308, 1924.

[5]) Grün ist auch die Lösung des Hämatoporphyrin-Methyl-Esters in Chloroform. *Schumm*, H. **182**, 24, 1923.

a) In Äther, μμ.

Fäzes-Nr.	I	II	III	IV
6	637	582	532	—
7	636	579	532	498
10	639	581	—	—
11	637	583	536	500
14	639	(597?)	536	499
20	639	586	536	500
Mittelwerte	**638**	**582**	**534**	**499**
Koproporphyrin (*Fischer* u. *Schneller*) .	623,7	571,2	528,5	498,6

b) In Salzsäure, μμ.

Fäzes-Nr.	In 5proz. HCl		In 25proz. HCl				
6	598	553	—	—	—	—	—
7	597	553	—	—	—	—	—
9	600	559	—	—	—	—	—
11	600	557	—	—	—	—	—
14	595	557	595	—	557	—	—
17	—	—	(601?)	—	558	—	—
18	—	—	595	—	554	—	—
20	—	—	595	—	556	—	—
Mittelwerte	**598**	**556**	**595**	—	**556**	—	—
Koproporphyrin (*Fischer* u. *Schneller*) .	590,4	547,5	—	—	—	—	—
Schumm	—	—	593,1	573,5	549,9	524,5	509,3

Also sind gegenüber dem Koproporphyrin beinahe alle Absorptionsmaxima mehr oder minder stark nach dem roten Spektralende verschoben, und zwar in der ätherischen Lösung am ersten Streifen um ein ganz Bedeutendes, am zweiten und dritten Streifen weniger, am vierten gar nicht. In der 5proz. salzsauren Lösung ist die Verschiebung an beiden Streifen gleich stark.

Es ist demnach ganz sicher, daß der von mir gefundene Farbstoff *kein* Koproporphyrin ist. Andererseits gleicht er aber bezüglich seines allgemeinen spektralen Verhaltens durchaus den bisher bekannten natürlichen Porphyrinen: Er weist in ätherischer Lösung ein vierbandiges, in salzsaurer Lösung ein (wenigstens an dem von mir benutzten einfachen Apparat) ein zweibandiges Spektrum auf, so daß kein Zweifel darüber bestehen kann, daß wir es *auch in diesem Farbstoffe mit einem Porphyrin* zu tun haben. Es unterscheidet sich aber von den bisher bekannten einerseits durch die erwähnten Löslichkeitsverhältnisse, andererseits durch die Farbe seiner Lösungen, und es ist auch die Lage der Absorptionsmaxima mehr oder minder verschieden von denen der übrigen Porphyrine. Am nahesten kommt es bezüglich der Lage der Absorptionsmaxima

dem *Snapper*schen[1]), dem von *Kämmerer*[2]) beschriebenen und dem von *Papendieck*[3]) neben Koproporphyrin in normalem Fäzes aufgefundenen Porphyrin, wie aus nachstehender Zusammenstellung hervorgeht.

In Äther, μμ.

Das neue Porphyrin . .	**633**	**582**	—	**534**	**499**
Snappers Porphyrin . .	632	585	—	542½	—
Kämmerers Porphyrin .	632,6	—	574,9	533,3	498,1
Papendiecks Porphyrin .	632	585	575½	535	501

	In 5 proz. Salzsäure μμ			In 25 proz. Salzsäure μμ		
Das neue Porphyrin . .	**598**	—	**556**	**595**	—	**556**
Snappers Porphyrin[4]) .	—	—	—	602,5	—	557½
Kämmerers Porphyrin .	600,8	578,8	554,7	602,5	—	556,8
Papendiecks Porphyrin .	—	—	—	603½	581	557½

Zu bemerken wäre noch folgendes: Auf S. 440 habe ich erwähnt, daß ich den Versuch gemacht habe, die salzsaure Lösung des Koproporphyrins durch Ausschütteln mit Chloroform, in dem Koproporphyrin bekanntlich nicht löslich ist, zu reinigen. Die Chloroformlösung war etwas gefärbt, daher kann angenommen werden, daß es tatsächlich gelungen ist, das Koproporphyrin von einem begleitenden Farbstoff zu befreien. Spektroskopisch untersucht, ergab diese Chloroformlösung nachstehend zusammengestellte Absorptionsmaxima, denen ich die Maxima der Chloroformlösung des neuen Porphyrins zur Seite gestellt habe:

Fäzes-Nr.	Begleitstoff des Koproporphyrins in Chloroform gelöst		Das neue Porphyrin in Chloroform gelöst	
14	606	555	603	564
15	606	557	—	—
16	606	557	—	—
18	604	559	—	—

Obgleich ich bloß über eine einzige Beobachtung des in Chloroform gelösten neuen Porphyrins verfüge, kann ich mich der Annahme nicht verschließen, daß der Farbstoff, der das Koproporphyrin in der salzsauren Lösung begleitet bzw. verunreinigt hatte, dem neuen Porphyrin ähnlich oder gar mit ihm identisch war.

———

Angesichts der ansehnlichen Zahl der in den letzten Jahren neu aufgefundenen Porphyrine, welche Zahl sich durch das von mir be-

[1]) l. c., S. 233.
[2]) Daten bei *Fischer* und *Schneller*, l. c., S. 324.
[3]) Zum ersten Male erwähnt bei *A. Papendieck*, H. 128, 109, 1923; obige neueren Daten bei *O. Schumm*, H. **136**, 250, 1924.
[4]) Salzsäurekonzentration nicht angegeben.

schriebene um eins vermehrt, muß man sich unwillkürlich fragen, ob alle diese Porphyrine auch wirklich voneinander verschiedene chemische Verbindungen seien? Ob man es nicht eher in mehreren unter ihnen mit demselben Körper zu tun habe, der je nach der verschiedenen Provenienz (verschiedene Organe oder Säfte) bzw. nach der verschiedenen Darstellungsart verschiedenartig verunreinigt erhalten wurde?

Diese Frage wird sich mit Sicherheit wohl nur beantworten lassen, wenn die chemische Analyse, z. B. der Ester oder der über die Ester gereinigten freien Porphyrine, konsequent durchgeführt sein wird. Zurzeit läßt sich nur so viel sagen, daß — von Hämato- und Mesoporphyrin abgesehen — nur Kopro- und Uroporphyrin, die exakt analysiert sind, als chemische Individuen anerkannt werden können; von einigen anderen natürlichen Porphyrinen hingegen kann es sich herausstellen, daß die Entdecker einen und denselben Körper in verschiedenartig verunreinigtem Zustande in Händen gehabt haben.

Die Mittel, die zur Ausführung der oben beschriebenen Untersuchungen nötig waren, wurden zum größten Teil von Herrn Prof. *L. Nékám*, dem Vorstande der hiesigen dermatologischen Universitätsklinik, zur Verfügung gestellt, wofür ich an dieser Stelle meinen innigsten Dank ausspreche. Die Arbeit wurde unter Leitung des Herrn Prof. *Hári* ausgeführt.

Zur Biochemie der Strahlenwirkungen.

II. Mitteilung:

Der Einfluß der ultravioletten und Röntgenstrahlung auf den Wasser-, Salz- und Eiweißbestand des Serums.

Von

Christian Kroetz.

(Aus der medizinischen Klinik der Universität Greifswald.)

(Eingegangen am 12. August 1924.)

Über den Gegenstand der vorliegenden Untersuchungen sind in der Literatur eine Reihe von Arbeiten vorhanden, die aber in Fragestellung und Versuchsmethodik nicht ganz befriedigen. Es war daher notwendig, mit erweiterter Fragestellung und einwandfreier Versuchsanordnung dieses Gebiet nochmals experimentell zu bearbeiten.

Die Konzentrationsänderung des einen oder anderen Anions oder Kations kann durch kompensatorische Verschiebungen anderer Ionen in ihrem biologischen Effekt aufgehoben und damit das bestehende *Ionengleichgewicht* auf seinem Werte erhalten werden. Zu fordern ist daher, daß in Reihenuntersuchungen über die Art der Strahleneinwirkung möglichst alle serumeigenen anorganischen Ionen gleichzeitig bestimmt werden. Diese Forderung scheint bisher nicht berücksichtigt, woraus sich eine Anzahl der in der einschlägigen Literatur niedergelegten Widersprüche erklären läßt.

Ionenverschiebungen, die das Ergebnis von Reihenuntersuchungen über den Einfluß der Strahlen auf den Mineralgehalt des Serums stark fälschen können, werden bereits durch unzweckmäßige *Gewinnung des Serums* hervorgerufen. Schon verhältnismäßig geringe Veränderungen in der CO_2-Spannung des Blutes vermögen einen quantitativ recht erheblichen Austausch saurer und basischer Valenzen zwischen Körperchen und Serum zu veranlassen. Zu fordern ist daher, daß das Serum bei der im Blute herrschenden CO_2-Spannung von den Körperchen abgetrennt wird. Diesem Zweck dient die Entnahme des Blutes unter Paraffinöl. Einige chemische Methoden (vor allem die K-, in geringem Maße auch die Ca-Bestimmung nach *Kramer* und *Tisdall*) sind außerordentlich empfindlich gegen geringe Beimengungen von Blutfarbstoff zum Serum. Beim Kalium genügt schon ein länger als halbstündiges Zusammenbleiben von Erythrocyten und Serum, um die K-Werte bis auf das Doppelte zu erhöhen[1]). Auch diese Fehlerquellen sind natürlich zu beachten. Die K-, Ca-, Na-Bestimmungen wurden in den ersten 2 Stunden angesetzt.

[1]) *Wilkins* und *Kramer*, Ber. f. d. ges. Physiol. 21, 403, 1924.

Die in den vorliegenden Versuchen benutzte *Methodik* ist in der ersten Mitteilung[1]) eingehend besprochen. Die Versuchspersonen sind dieselben wie in jener. Während dort die experimentellen Daten über die Änderungen der aktuellen Reaktion und der Alkalireserve des Gesamtblutes niedergelegt sind, werden hier in Kürze die experimentellen Belege für die Verschiebungen des Wasser-, Salz- und Eiweißbestandes des Serums gebracht. Ihr Ergebnis ist teilweise schon in die Erörterungen der ersten Mitteilung eingegangen.

I. Die Wasserverschiebungen.

Sie werden den Trockensubstanzwerten des Serums entnommen. In den auftretenden Bewegungen dieser Werte lassen sich zwei Phasen unterscheiden, eine frühe, flüchtige, zeitlich ungefähr der ersten Stunde nach der Bestrahlung entsprechende, und eine spätere, dauernde, ungefähr mit der zweiten Stunde der Nachwirkungszeit beginnende und tagelang anhaltende. Ebenso begrenzte Stadien waren bei den Änderungen der aktuellen Reaktion des Blutes aufgewiesen worden. Das flüchtige Stadium der Acidose geht in den Licht- und Röntgenversuchen mit einer mehr oder weniger deutlichen Wasserzunahme des Serums einher.

Die Abnahme der Trockensubstanz beträgt für das Ultraviolettlicht 3,3 und 2,6 Proz. (*He.*), 4,4 Proz. (*Zi.*), für die Röntgenstrahlen 3,5 Proz. (*Ze.*), 5,8 Proz. (*Ka.*) und 0,6 Proz. (*Neu.*) des Ausgangswertes; der Lichtfall *Egg.* wurde in diesem Frühstadium nicht untersucht. Eine Ausnahme bildet allein *Mei.* (Licht), welcher bereits eine Viertelstunde nach der Bestrahlung eine geringe Abnahme des Serumwassergehaltes um 0,8 Proz. aufweist. Die Wasserzunahme im Serum wird stets mit dem Übergang in das zweite, länger dauernde Stadium, gleichzeitig mit der alkalotischen Reaktionsumstimmung, wieder rückgängig gemacht. Der Wassergehalt nähert sich wieder dem Ausgangswert; in den Fällen, wo die initiale Wasserzunahme fehlte, tritt nunmehr eine deutliche Abnahme des Serumwassers auf. So ist bei dem nach $1\frac{1}{2}$ Stunden bereits alkalotischen Lichtfall *Egg.* um diese Zeit die Trockensubstanz um 2,9 Proz. erhöht und entsprechend sind nach 24 Stunden bei den übrigen Versuchspersonen die Werte, verglichen mit denen der Vorperiode, für Licht um + 0,6 und + 0,2 Proz. (*He.* I. und II.), + 1,8 Proz. (*Mei.*), + 3,2 Proz. (*Egg.*), — 0,4 Proz. (*Zi.*), verändert, für Röntgen um — 0,8 (*Ze.*), — 1,4 (*Ka.*), + 0,4 Proz. (*Neu.* I.). Bei *Neu.* läßt sich durch fortgesetzte Bestrahlungen der Wassergehalt der jeweiligen alkalotischen Phase noch weiter senken. 72 Stunden nach der dritten Bestrahlung ist er um 3 Proz. geringer als in der Vorperiode.

Die Wasserzunahme des Serums im initialen Stadium der Strahlennachwirkung ist ein komplexer Vorgang. Im Serum selbst werden zweifellos kleine Mengen Hydratationswasser frei, im Zusammenhang mit der Abnahme der negativen Ladung der Bluteiweißkörper infolge der sekundären Elektronenstrahlung. Andererseits führt die begleitende Säuerung zu einer Quellungszunahme der Blutkolloide. Ferner treten

---

[1]) *Kroetz*, diese Zeitschr. **151**, 146, 1924.

Wasserverschiebungen zwischen Körperchen und Serum auf. Mit sinkender CO_2-Spannung steigt der Wassergehalt des Serums an infolge eines Einstroms von Wasser in das Serum aus den Körperchen [*Limbeck*[1]), *Kl. Meier*[2])]. Da jedoch der experimentell festgestellte Enderfolg der Wasserbewegungen in der Regel eine nicht geringe Zunahme des Serumwassers ist, so ergibt sich, daß gewöhnlich dazuhin noch ein beträchtlicher *Wassereinstrom aus dem Gewebe* stattgefunden haben muß. Zweifellos ist der Wassergehalt der Gewebe, der starken individuellen Schwankungen ausgesetzt ist, derjenige Faktor, welcher die Größe (bzw. das Fehlen) der Wasserzunahme im Serum unter Strahleneinwirkung bestimmt.

Wohin geht dieses Wasser, wenn im alkalotischen Stadium der Wassergehalt wieder auf den Vorwert eingestellt wird? Darüber scheinen die vorliegenden Wasserbilanzen[3]) eine Auskunft zu geben, welche eine mehr oder weniger erhebliche Zunahme der Wasserausscheidung durch die Niere in der 24-Stundenmenge des ersten bis dritten Tages nach Strahleneinwirkung ergeben.

In den in der Literatur niedergelegten Beobachtungen werden die Wasserverschiebungen im Serum teils gleichartig [*Schlagintweit* und *Sielmann*[4]) nach Erythrocytenzählungen, *Bernhardt*[5]) nach Trockensubstanzbestimmungen], teilweise als nicht eindeutig und geringgradig [*Königsfeld*[6]) auf Grund von Erythrocyten- und Hämoglobinbestimmungen] geschildert. Schlüsse, die aus Refraktionsverschiebungen auf den Wassergehalt des Serums gezogen werden[7]), sind hinfällig, denn Trockensubstanz und Refraktionswert können sich entgegengesetzt ändern. Die Gefrierpunktswerte des Serums, die von der molaren Konzentration der Lösung abhängen, gehen den Änderungen der Trockensubstanz ungefähr parallel (s. Protokolle dieser Arbeit).

II. Refraktionswerte (Eiweißbestand).

Daß sich Wassergehalt und Refraktionswerte entgegengesetzt bewegen können, wurde erstmals von *Bernhardt*[8]) betont, und zwar gingen gerade bei sehr intensiven und den übrigen Stoffwechsel stark beeinflussenden Bestrahlungen die Werte auseinander. Seine Beob-

---

[1]) *Limbeck*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **35**, 209, 1895.

[2]) *Kl. Meier*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **29**, 322, 1922.

[3]) *Bernhardt*, Zeitschr. f. klin. Med. **98**, 50, 1924; *Cori* und *Pucher*, The Amer. Journ. of Roentg. **10**, 738, 1923.

[4]) *Schlagintweit* und *Sielmann*, Klin. Wochenschr. **1**, 2136, 1922.

[5]) *Bernhardt*, Zeitschr. f. klin. Med. **98**, 50, 1924; Klin. Wochenschr. **2**, 1795, 1923.

[6]) *Königsfeld*, Zeitschr. f. klin. Med. **91**, 159, 1921.

[7]) *Klewitz*, Klin. Wochenschr. **2**, 171, 1923; *Herzfeld* und *Schinz*, Strahlentherapie **15**, 1, 1923; *Mahnert* und *Zacherl*, ebendaselbst **16**, 163, 1924.

[8]) *Bernhardt*, Klin. Wochenschr. **2**, 1795, 1923.

achtung wird in meinen Versuchen, bei welchen durchweg große Strahlen mengen verwendet wurden, bestätigt.

Die Refraktionswerte nahmen in allen Fällen zu. Trotz der geschilderten initialen Wasservermehrung im Serum steigt dessen Refraktion an, in den Lichtversuchen um 0,6 und 2,2 (*He.* I. und II.), 0,7 (*Zi.*) Skalenteile, in den Röntgenversuchen um 0,3 (*Ze.*), 0,9 (*Ka.*), 1,1 (*Neu.* I.) Skalenteile. Bemerkenswert ist besonders Fall *Ka.*, wo die Trockensubstanz um 5,8 Proz. abnahm, die Refraktionszahl um 1,4 Proz. ihrer vorigen Höhe anstieg. Bei *Mei.*, wo schon in der ersten Phase der Wassergehalt um 0,8 Proz. anstieg, ist die Refraktion um 1,3 Skalenteile erhöht. Die Erhöhung der Refraktionszahl klingt während des alkalotischen Stadiums wieder ab, bleibt aber auch dort, wo der Wassergehalt über dem Stand in der Vorperiode eingestellt bleibt, deutlich über den Ausgangswert erhöht.

Es wurde davon abgesehen, die Refraktometerskalenteile in Eiweißprozente umzurechnen. Die Verhältnisse liegen hier etwas verwickelt. Die Änderungen des Salzgehaltes könnten verhältnismäßig noch am ehesten übergangen werden; eine Berechnung an Hand der Tabellen von *Reiss*[1]) ergibt, daß die größte beobachtete Abweichung vom Vorwert die Refraktion um etwa 0,01 Skalenteile vermindert. Entscheidender sind andere Überlegungen. Da die Refraktion eines Atoms oder Moleküls abhängig ist von seiner Konstitution, so können die gleichen Atome in verschiedenen Bindungen einen verschiedenen Refraktionswert abgeben. Es ist nun durch Untersuchungen von *Fernau* und *Pauli*[2]) wahrscheinlich gemacht, daß unter Strahlenwirkung intramolekulare Strukturänderungen bei Eiweißkörpern vorkommen. In welcher Weise dabei das Brechungsvermögen beeinflußt wird, ist nicht bekannt. Aus der Tatsache, daß bei geringen Strahlenmengen Refraktionswert und Trockensubstanz parallel gehen, bei großen Strahlenmengen der Refraktionswert ansteigt, könnten zwei verschiedene Schlüsse gezogen werden. Entweder hat bei quantitativ unverändertem Eiweißbestand des Blutes das Lichtbrechungsvermögen der Serumeiweiße zugenommen, eine Folge der stattgefundenen intramolekularen Umlagerungen. Oder es sind blutfremde Eiweißkörper, über deren Lichtbrechung keine Aussage möglich ist, in das Serum eingeströmt. Welche von beiden Annahmen das Richtige trifft, ob im konkreten Falle beide Gültigkeit haben und nebeneinander auf die Einstellung des Reaktionswertes Einfluß nehmen, läßt sich zurzeit nicht entscheiden.

Der einzig gesicherte Schluß, der aus den vorliegenden Untersuchungen gezogen werden darf, ist daher der sehr allgemein gehaltene Satz, daß sich der Eiweißbestand des Blutes unter Strahlenwirkung verändert hat. Es bleibt dabei offen, wieweit außer der *qualitativen*

[1]) *Reiss*, Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 8, 106, 1915.

[2]) *Fernau* und *Pauli*, Kolloidzeitschr. 30, 6, 1922.

Änderung eine *quantitative* Zunahme des Serumeiweißes durch Eindringen von Gewebseiweiß an der refraktometrisch festgestellten *Umstellung des Serumeiweißbestandes* beteiligt ist. Die aus späteren Befunden erschlossene Folgerung, daß die Umstellung des Eiweißbestandes mit einer Zunahme organischer saurer Valenzen im Serum verbunden ist, wird durch das Offenbleiben der obigen Frage nicht beeinflußt. Sowohl mit der Annahme einer nur qualitativen als einer dazukommenden quantitativen Änderung des Serumeiweißes läßt sich das Auftreten saurer Eiweißumbauprodukte vereinbaren.

III. Anionen.

Chloride. Die Mehrzahl der bisherigen Untersuchungen über den Mineralstoffwechsel bei Röntgenbestrahlung haben sich ausschließlich mit dem Cl-Anion befaßt. *Schlagintweit* und *Sielmann*[1]) verdankt man die erste Feststellung einer Kochsalzverminderung unter Röntgeneinfluß, eine Feststellung, die bekanntlich von einer zufälligen therapeutischen Beobachtung ihren Ausgang nahm.

Sie wurde von zahlreichen Nachuntersuchern bestätigt. [*Neuda*[2]), *Cori* und *Pucher*[3]), *Bernhardt*[4]), *Mahnert* und *Zacherl*[5]), *Andersen* und *Kohlmann*[6])]. Die Abnahme des Cl soll nach den genannten Autoren der Wasserzunahme ungefähr parallel gehen, überdauert aber, wie aus allen Protokollen hervorgeht, die verhältnismäßig kurze Begrenzung der letzteren.

Auch die hier vorgelegten Untersuchungen bestätigen die Abnahme des Chlorspiegels im Serum. Für Ultraviolettlicht war sie mir in der Literatur nicht zugänglich[7]). Sie beträgt im Minimum 18 mg-Proz. (Licht und Röntgen), im Maximum 35 (Licht) und 46 (Röntgen) mg-Proz. Die entsprechenden gleichzeitigen prozentuellen Änderungen von Cl und Trockensubstanz gehen aus folgender Zusammenstellung hervor (Werte nach ¼ bis 1½ Stunden):

	Licht				Röntgen		
Name:	*He.*	*Mei.*	*Egg.*	*Zi.*	*Ze.*	*Ka.*	*Neu.*
Cl	—5,9	—3,0	—3,9	—5,0	—6,6	—7,6	—3,0
Trockensubst.	—3,3	+0,8	+2,9	—4,4	—3,5	—5,8	—0,6

1) *Schlaginweit* und *Sielmann*, Klin. Wochenschr. **1**, 2036, 1922.
2) *Neuda*, ebendaselbst **2**, 1306, 1923.
3) *Cori* und *Pucher*, The Amer. Journ. of Roentg. **10**, 738, 1923.
4) *Bernhardt*, Zeitschr. f. klin. Med. **98**, 54, 1924.
5) *Mahnert* und *Zacherl*, Strahlentherapie **16**, 163, 1924.
6) *Andersen* und *Kohlmann*, 3. Röntg.-Kongreßh. 1922, S. 102.
7) In einer nach Abschluß der Arbeit erschienenen Mitteilung *György* und *Essingers* wurden unter Quarzlampenlicht teils geringe Verminderungen, teils mäßige Erhöhungen des Cl-Spiegels festgestellt. Da gleichzeitige Bestimmungen der Wasserverschiebungen nicht durchgeführt wurden, ist über die wahren Chlorbewegungen dieser Fälle nichts auszusagen.

Die Zusammenstellung zeigt deutlich, daß die Chlorabnahme im Serum, verglichen mit der gleichzeitigen Wasserzunahme, eine überschießende ist. Es handelt sich um ein tatsächliches Verschwinden von Cl aus dem Serum, um eine *echte Hypochlorämie*.

Sie wird auch bestätigt durch den häufigen Befund der Voruntersucher, daß die Cl-Werte nach 24 Stunden, bei Rückkehr des früheren Wassergehalts, noch unter dem Wert der Vorperiode bleiben können.

In den *eigenen* Versuchen ist dieses Verhalten recht ausgesprochen, es spiegelt sich in folgenden Prozentzahlen (Werte nach 24 oder 72 Stunden):

	Licht				Röntgen		
Name:	*He.*	*Mei.*	*Egg.*	*Zi.*	*Ze.*	*Ka.*	*Neu.*
Cl	—2,1	—2,0	—1,9	—4,1	—5,7	—3,2	—2,0
Trockensubst.	+0,6	+1,8	+3,2	—0,4	—0,8	—1,4	+0,4

Die geringe Steigerung der absoluten Chlorwerte in der Zeit zwischen 1. und 24. Stunde nach Bestrahlung entspricht lediglich der gleichlaufenden Wasserabnahme im Serum.

Welchen Weg nimmt das verschwindende Chlor? Handelt es sich um wirkliche Entfernung aus dem Blut? Bei Änderung der CO_2-Spannung des Blutes erfährt der Chlorspiegel des Serums infolge stattfindender Ionenverschiebungen zwischen Körperchen und Serum eine Veränderung, besonders stark im Bereiche der physiologischen Breite [*Limbeck*[1]), *Fridericia*[2]), *Kl. Meier*[3])]. Und zwar ist mit abnehmender CO_2-Spannung eine stetige Zunahme der Serumchloride verbunden. Jener Betrag der Chlorabnahme im Serum, der in den vorliegenden Versuchen die Wasserzunahme übertrifft, die wahre Hypochlorämie, muß somit auf den Einstrom salzarmer Gewebsflüssigkeit oder (wahrscheinlicher) auf beginnende Mehrausscheidung von Chlor durch die Nieren bezogen werden. Diese Chlorbewegung muß im alkalischen Dauerstadium noch anhalten, da trotz Wasserabnahme die Hypochlorämie weiter besteht. — Die Bilanzen des Chlorwasserstoffwechsels, die in der Literatur vorliegen, sind widersprechend. *Königsfeld*[4]) fand bei gesunden, mit Ultraviolettlicht bestrahlten Menschen am Bestrahlungstage zweimal mäßige Mehrausscheidung, einmal keine Beeinflussung. *Neuda*[5]) beobachtete bei Röntgenbestrahlung teils Mehrausscheidung, teils Retention; nach seiner Meinung soll das Fehlen einer Chlormehrausscheidung im Harn die Folge einer krankhaften Einstellung des Chlorstoffwechsels sein. Bei Krebskranken, deren

[1]) *Limbeck*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **35**, 309, 1895.
[2]) *Fridericia*, Journ. of biol. Chem. **42**, 245, 1920.
[3]) *Kl. Meier*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **29**, 322, 1922.
[4]) *Königsfeld*, Zeitschr. f. klin. Med. **91**, 159, 1921.
[5]) *Neuda*, Wien. klin. Wochenschr. **36**, 773, 1923.

Chlorstoffwechsel sich möglicherweise abnorm verhält, stellten *Cori* und *Pucher*[1]) erhebliche Retention, *Bernhardt*[2]) fehlende Beeinflussung fest.

Bicarbonat. Es wurde, wie angegeben, aus den Volumprozenten der aus dem Serum ausschüttelbaren CO_2 (vermindert um den Betrag der freien CO_2) berechnet. Seine Bewegungen verlaufen völlig parallel mit denen der Alkalireserve des Gesamtblutes[3]), weisen also im Stadium der initialen Acidose und Hydrämie eine erhebliche Verminderung, im alkalotischen eine mäßige Steigerung auf. Es erübrigt sich, auf die Einzelheiten, die sich mit denen der Änderungen der Alkalireserve weitgehend decken, des Näheren einzugehen. Kurz erwähnt möge nur sein, daß die Ausschläge in der ersten Periode bis -24 Proz. (*Ze.*), in der zweiten Periode bis $+14$ Proz. (*He.*) gegenüber dem Bicarbonatwert der Vorperiode betragen. Die Bicarbonatbestimmungen *Husseys* und *Goldens* im Plasma sind in der ersten Mitteilung besprochen.

Phosphate. Sie wurden nur an zwei Menschen der Lichtversuche bestimmt; ihre Veränderungen unter Röntgenwirkung wurde an einem Hunde verfolgt.

In Übereinstimmung mit den lichttherapeutischen Erfahrungen bei Tetanie und Rachitis[4]) wurde ein deutlicher Anstieg der P-Werte, im Durchschnitt um 25 Proz., beobachtet (s. Protokolle). *Cori* und *Pucher*[5]) fanden in ihrem zweiten Röntgenfalle eine Erhöhung des anorganischen Serumphosphors um über 100 Proz. *Essinger* und *György* teilen bei Ultraviolett soeben[6]) schwankende Beeinflussung bei kleinen und mittleren Dosen mit. Bei kleinen Dosen nimmt der anorganische Phosphor fünfmal ab, 15mal zu; bei mittleren Dosen viermal ab, dreimal zu. Die Licht- und Röntgendosen meiner Fälle, die als höchste Strahlenmenge gelten könnten, führten regelmäßig zur Erhöhung der P-Werte.

Sulfate. Für die Untersuchung des Säurebasengleichgewichts sind sie wegen ihrer minimalen Konzentration im Serum zu vernachlässigen.

IV. Kationen.

Natrium. Untersuchungen liegen bisher weder für Ultraviolettlicht noch für Röntgenstrahlung vor. Die Veränderungen des Natriums, im Zusammenhang mit denjenigen des Cl und HCO_3, entscheiden im Groben das Säurebasengleichgewicht im Serum. P_2O_5, K und Ca spielen eine verhältnismäßig untergeordnete Rolle. Die gravimetrischen Bestimmungen des Na nach *Kramer* und *Tisdall* ergaben bei sorg-

---

1) *Cori* und *Pucher*, The Amer. Journ. of Roentg. **10**, 738, 1923.

2) *Bernhardt*, Zeitschr. f. klin. Med. **98**, 50, 1924.

3) *Kroetz*, I. Mitteilung; diese Zeitschr. **151**, 146, 1924.

4) *Kramer*, Kongr. Zentralbl. f. d. ges. inn. Med. **29**, 307, 1923.; *Lasch*, ebendaselbst **20**, 486, 1921.

5) *Cori* und *Pucher*, The Amer. Journ. of Roentg. **10**, 738, 1923.

6) *Essinger* und *György*, diese Zeitschr. **149**, 344, 1924.

fältigster Arbeit in Doppelbestimmungen stets sehr gut übereinstimmende Werte. Es zeigte sich, daß die Bewegungen des Natriums keineswegs den Veränderungen der Cl- und HCO_3-Konzentration parallel gehen. Im hydrämischen Stadium ist eine geringe Abnahme, meistens hinter der Zunahme des Serumwassers deutlich zurückbleibend, zu verzeichnen, während sich sowohl Cl als besonders HCO_3 weit überschießend vermindert hatten. Wo die Serumverdünnung fehlt, tritt überschießende Natriumvermehrung zutage.

Die folgende Zusammenstellung gibt einen Überblick über die Verhältnisse.

	Licht				Röntgen		
Name:	*He.*	*Mei.*	*Egg.*	*Zi.*	*Ze.*	*Ka.*	*Neu.*
Trockensubst.	—3,3	+ 0,8	+ 2,9	—4,4	—3,5	—5,8	—0,6
Na	—1,3	+ 3,2	+ 3,3	—1,1	—5,0	—5,3	—1,7

Daß die hieraus abgeleitete relative Zunahme des Natriums zu Recht besteht, zeigt sich auch in der Beziehung zwischen Trockensubstanz und Natrium nach 24 Stunden, wo besonders in den Lichtversuchen die Vermehrung des Natriums deutlich wird (vgl. die folgende Zusammenstellung).

	Licht				Röntgen		
Name:	*He.*	*Mei.*	*Egg.*	*Zi.*	*Ze.*	*Ka.*	*Neu.*
Trockensubst.	+ 0,6	+ 1,8	+ 3,2	—0,4	—0,9	—1,4	+ 0,4
Na	+ 1,7	+ 4,8	+ 3,7	+ 0,6	—0,8	—1,2	+ 1,2

Um die gleiche Zeit dauern, wie dargetan, noch erhebliche Defizite der Chlorkonzentration an, welche durch die mäßige Zunahme des Bicarbonats nicht voll ausgeglichen sind.

Die vergleichende Beobachtung der Natrium- und Wasserverschiebungen im Serum unter Röntgenwirkung gestatten also den Schluß, daß im Serum meistens eine deutliche ***Alkalizunahme*** zustande kommt. Woher wird dieses Alkali bezogen? Die Annahme eines Alkalieinstroms in das Serum aus dem Gewebe her, zu einer Zeit, wo im Gewebe selbst unter Strahleneinfluß eine lebhafte Säurebildung durch Eiweißumbau stattfindet, liegt zunächst kaum nahe. Da aber die Austauschvorgänge, welche bei abnehmender CO_2-Spannung des Blutes zwischen Körperchen und Serum ablaufen, in den vorliegenden Versuchen eher eine geringe Natriumabnahme hervorrufen müssen [1-5]), so ist diese

[1]) *Zuntz*, Hermanns Handb. d. Physiol. 4, II, S. 77, 1880.
[2]) *Hamburger*, Osmotischer Druck und Ionenlehre I, 1902.
[3]) *Kl. Meier*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 29, 322, 1922.
[4]) *Mellanby* und *Wood*, Journ. of physiol. 57, 113, 1923.
[5]) *Kl. Gollwitzer-Meier* und *E. Chr. Meyer*, Z. f. d. ges. exp. Med. 40, 74, 1924.

Annahme nicht zu umgehen. Die Verhältnisse würden dann so liegen, daß der Körper bereits im acidotischen Stadium Alkali in das Blut wirft (zusammen mit den organischen Säurevalenzen), um die Blutreaktion wieder einzuregulieren.

Kalium. Die Änderungen des Kaliumspiegels unter Lichtwirkung waren in der bisherigen Literatur nicht untersucht, unter Röntgeneinfluß stellten als einzige *Andersen* und *Kohlmann*[1]) eine Abnahme des K fest, die Zahl der Fälle ist nicht angegeben. Sie bilden eine Kurve ab, aus der eine Abnahme des K von 25,0 mg-Proz. vorher, auf 23,0 mg-Proz. nach etwa $1/4$ Stunde und auf 14,0 mg-Proz. nach 48 Stunden zu entnehmen ist. In meinen sämtlichen Versuchen an neun Menschen und vier Tieren wurde niemals ein Absinken des K beobachtet. Im Gegenteil, es stieg regelmäßig, ohne Ausnahme, deutlich an, im Minimum um 2,05 mg-Proz., im Maximum um 6,3 mg-Proz. Vom Werte der Vorperiode aus sind dies *Steigerungen um 9 bis 30 Proz.* In Kurvenform übertragen, stellen die eigenen Resultate geradezu ein Spiegelbild der Kurve von *Andersen* und *Kohlmann* dar.

Es ist zunächst schwer zu sagen, wie diese Unstimmigkeit zu erklären ist und sie ist um so auffälliger, als auch in den zwei zahlenmäßig wiedergegebenen Ca-Untersuchungen *Andersens* und *Kohlmanns* die Beeinflussung durch Röntgenstrahlen gerade entgegengesetzt verläuft gegenüber derjenigen in den eigenen Versuchen. Die durch sehr gut übereinstimmende Doppelwerte gesicherte Kaliumzunahme im Serum bei meinen Versuchspersonen ist indes lediglich ein einzelnes Glied in der Gesamtheit der verfolgten Ionenverschiebungen. Und da es aus den sehr wenig detaillierten Angaben *Andersens* und *Kohlmanns* nicht hervorgeht, ob die K- und Ca-Verschiebungen an demselben oder an verschiedenen Individuen beobachtet wurden, so ist sehr wohl mit der Möglichkeit zu rechnen, daß in ihren Versuchen der Gesamtwert der Ionenverschiebungen in seinem biologischen Effekt zuletzt doch gleichgerichtet ist demjenigen, der an meinem Versuchsmaterial einheitlich und eindeutig bestimmt werden konnte. Vielleicht wird diese Vermutung auch gestützt durch die Angabe *Andersens* und *Kohlmanns*, daß sie durch intravenöse Ca-Injektionen die Katererscheinungen ihrer Patienten bessern konnten, eine Therapie, die das Ionengleichgewicht noch mehr nach der bei *Andersen* und *Kohlmann* unter Röntgenwirkung aufgetretenen Richtung hin verschieben würde, während sie als eine antagonistische und zweckmäßige therapeutische Beeinflussung erscheinen könnte, bei der Annahme, daß auch in diesen Fällen die gesamte Ionenverschiebung nach der in meinen Versuchen ermittelten Seite hin erfolgt wäre.

Die Richtigkeit dieser Vermutung wird durch die Befunde der schon mehrfach erwähnten, soeben erschienenen Untersuchungen *Essingers* und *Györgys*[2]) bestätigt. Diese Autoren fassen ihre Kaliumwerte dahin zusammen, daß bei kleinen Ultraviolettlichtdosen eine

---

[1]) *Andersen* und *Kohlmann*, 3. Röntgenkongreßheft 1922.

[2]) *Essinger* und *György*, diese Zeitschr. **149**, 344, 1924.

Abnahme, bei größeren Dosen nach 24 Stunden keine Beeinflussung nachweisbar sei. Aus ihrem umfangreichen Tabellenmaterial läßt sich indes entnehmen, daß bei kleinen Dosen unter 10 untersuchten Fällen K achtmal ab-, zweimal zunahm, bei mittleren Dosen viermal ab-, dreimal zunahm. Im Zusammenhang mit den sehr unregelmäßigen Schwankungen der P- und Ca-Werte scheint ein solches Verhalten vielleicht doch weniger die von diesen Autoren gezogenen Schlüsse über die Bewegungen des Einzelions nahezulegen, als vielmehr die Vermutung zu unterstützen, daß es sich um Verschiebungen eines Gesamtionengleichgewichtes unter Strahlenwirkung handle. Berechnet man aus den Milligramm-Prozentzahlen *Essingers* und *Györgys* sich die äquivalenten Konzentrationen von K, Ca und P und bestimmt hieraus den Verhältniswert, so ergibt sich das (nach meinen Untersuchungen zu erwartende) Resultat, daß sehr regelmäßig (in 12 von 17 Fällen) dieser Verhältniswert *zu*nimmt. Wenn bei meinen Versuchspersonen die Verschiebungen der genannten Ionen stets gleich gerichtet waren, so muß das wohl so erklärt werden, daß bei den verwendeten maximalen Strahlendosen regelmäßige und charakteristische Bewegungen des Einzelions auftreten.

Calcium. Die zahlreichen Angaben über die Beeinflussung des Serumkalkspiegels durch Ultraviolettlicht bei Krankheiten, in deren Mittelpunkt nach den derzeitigen pathogenetischen Vorstellungen eine Störung des Mineralstoffwechsels steht, können begreiflicherweise nicht mit der Ultraviolettlichtwirkung an gesunden Normalpersonen oder an Kranken verglichen werden, bei denen kein Anhalt für eine ernstere Störung des Mineralstoffwechsels gegeben ist. Bekanntlich kann bei Tetanie und Rachitis[1]) durch künstliche Höhensonne der herabgesetzte Calciumspiegel des Serums auf normale Werte gehoben werden. Ob sich die Carcinomkranken meiner Röntgenversuche in Beziehung auf ihren Mineralbestand wie Normale verhalten, ist freilich unentschieden; einem Einwand dieser Art kann aber entgegengehalten werden, daß die Veränderungen des Ionengleichgewichtes bei ihnen durchaus identisch waren mit denjenigen, welche bei organisch gesunden Menschen in den Lichtversuchen beobachtet wurden. Weniger beweisend ist es, daß auch vier gesunde Tiere (zwei Hunde, zwei Kaninchen) gleichgerichtete Ausschläge zeigten.

Der Serumkalkspiegel zeigte sowohl unter der Einwirkung von ultraviolettem als von Röntgenlicht eine geringe, aber doch erkennbare und regelmäßige *Abnahme*, im Minimum um 0,25 mg-Proz., im Maximum um 0,90 mg-Proz., d. h. um 3 bis 7 Proz. des Ausgangswertes.

---

[1]) *Kramer*, Kongr. Zentralbl. f. d. ges. inn. Med. **29**, 307, 1923; **33**, 444, 1924.

Gans und *György*[1]) haben damit übereinstimmend bei Ultraviolettlicht ebenfalls Calciumabnahme, *Rothmann*[2]) im Gegensatz hierzu Calciumzunahme gefunden. Die nach Abschluß dieser Arbeit eingetroffenen Untersuchungen *Essingers* und *Györgys*[3]) stellen bei geringen Lichtdosen eine mäßige Abnahme, bei mittleren Lichtdosen eine leichte Zunahme der Ca-Werte fest. Nach ihren Protokollen nimmt bei geringen Dosen Ca 13mal ab, fünfmal zu, zweimal bleibt es unverändert; bei mittleren Dosen steigt Ca viermal an, fällt dreimal ab. Es sind also auch hier schwankende Resultate, welche erst durch Zuhilfenahme des Verhältniswertes der äquivalenten Konzentrationen Sinn gewinnen und bemerkenswerterweise dann für kleine, mittlere und größte Strahlenmengen einen gleichartigen biologischen Erfolg zeigen. *Andersen* und *Kehlmann* stellten zweimal Zunahme fest (s. oben).

Sowohl die Änderung des Natriums als die des Kalium- und Calciumspiegels wurden meistens über Tage hin unvermindert festgehalten oder zeigten sogar, besonders in den Lichtversuchen, eine Neigung sich noch deutlicher auszuprägen; vgl. besonders Fall *Zi.*, welcher nach 24 Stunden 23,4 mg-Proz. K und 8,5 mg-Proz. Ca, 123 Stunden nach der Bestrahlung 28,5 mg-Proz. K und 8,55 mg-Proz. Ca aufwies.

Bei der *Bewertung der zahlenmäßig recht geringfügigen Verschiebungen des Serumkalkes* muß berücksichtigt werden, daß sie nur den Gesamtkalk betreffen. Außer von seiner Höhe hängt aber die wirksame Calciumkonzentration vom *Ionisierungsgrad* des Ca in dem betreffenden Milieu ab. Da sowohl die Alkalose[4]), als eine Zunahme von Aminosäuren[5]), die Ionisierung des Ca herabsetzen, so ist die Abnahme der wirksamen $Ca^{\cdot\cdot}$-Konzentration im konkreten Fall erheblich größer als sie in den bestimmten Ca-Werten zum Ausdruck kommt.

Magnesium. Auf die Bestimmung dieses bilanzmäßig im Hintergrunde stehenden Kations wurde verzichtet.

V. Anionendefizit.

Unter normalen Verhältnissen herrscht im Serum ein Anionendefizit; einer etwas kleineren Menge anorganischer saurer Äquivalente steht eine größere Zahl von anorganischen basischen Valenzen gegenüber. Der Basenüberschuß existiert als Alkaliproteinat. Die Größe des Anionendefizits ist von *Kramer* beim Menschen auf durchschnittlich 14 Proz. der vorhandenen Basenäquivalente angegeben worden. Die Werte der verwendeten Versuchspersonen bewegen sich in der Vorperiode bei gleicher Größenordnung. Eine Ausnahme macht allein

---

1) *Gans* und *György*, zitiert in einer Anmerkung bei *Rothmann* und *Ladenberg*.
2) *Rothmann* und *Ladenberg*, Klin. Wochenschr. **2**, 1751, 1923.
3) *Essinger* und *György*, diese Zeitschr. **149**, 344, 1924.
4) *Behrendt*, ebendaselbst **144**, 72, 1924; **146**, 318, 1924.
5) *Freudenberg*, Klin. Wochenschr. **3**, 232, 1924.

der Fall *Mei.* (8,3 Proz.). Für die Deutung der in der ersten Mitteilung beschriebenen initialen wahren Acidose des Blutes ist es nun von entscheidender Wichtigkeit, daß die Aniondefizite im Frühstadium der Strahlennachwirkung erhebliche Steigerungen erfahren, welche in der ersten Stunde am stärksten ausgebildet sind, sich später wieder verringern, aber noch nach 24, 72 und 123 Stunden deutlich anhalten. Die .genauen Zahlenwerte sind in den am Schluß wiedergegebenen Protokollen enthalten. Die prozentuale Zunahme des Anionendefizits beträgt in den Lichtversuchen 35 bis 37 Proz., einmal 96 Proz., in den Röntgenversuchen 32 bis 52 Proz. Auffallend durch die Größe des Ausschlags ist allein der Wert *Mei.* (96 Proz.), der einhergeht mit einem verhältnismäßig geringen Anionendefizit in der Vorperiode.

Was bedeutet die *Vergrößerung des Anionendefizits?* Sie besagt, daß *im Serum organische Valenzen mit Säurecharakter neu aufgetreten sind.* Bei dem Ausmaß der Zunahme des Anionendefizits kann es sich entsprechend dem Verhältnis der organischen Bestandteile des Serums untereinander nur um *Eiweißveränderungen* handeln. Durch Regulationsvorgänge weiß der Organismus in den späteren Stunden der Strahlennachwirkung die Zunahme des Anionendefizits wieder herabzudrücken. Der anorganische Basenbestand, welcher im alkalotischen Stadium keine weitere Steigerung über diejenige in der acidotischen Phase aufweist, scheint dabei keine Rolle zu spielen. Er ist sogar wieder zu einem etwas größeren Teile von anorganischen sauren Valenzen (mäßige Bicarbonaterhöhung) in Anspruch genommen. Vielmehr kommen in dieser Periode die langsameren und groberen Regulationsmechanismen der Leber und Nieren zur Geltung. Für einen Abbau der organischen sauren Valenzen scheint die vermehrte Ausscheidung von Gesamt-N und von NH_3 zu sprechen. Leider ließen sich die Ausscheidungsverhältnisse in den hier untersuchten Fällen aus äußeren Gründen nicht mit in die Beobachtung einbeziehen. Doch liegen in der Literatur sowohl für Ultraviolettlicht als für Röntgenstrahlen eine Anzahl von Bilanzen vor [für Ultraviolettlicht *Königsfeld*[1]), für Röntgenstrahlen *Cavina*[2]), *Bernhardt*[3]), *Cori* und *Pucher*[4]).] Regelmäßig war die Gesamt-N-Ausscheidung erhöht. Die Ammoniakzahl (sie konnte aus den Protokollzahlen von *Cavina*, *Bernhardt*, *Cori* und *Pucher* errechnet werden) nahm bei *Cavina* um 23,8 Proz. zu, bei *Cori* und *Puchers* Fall II in der dritten Bestrahlungsperiode um 108 Proz. zu, bei *Bernhardts* Fall um 22 Proz. ab.

---

[1]) *Königsfeld*, Zeitschr. f. klin. Med. **96**, 159, 1920.
[2]) *Cavina*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **110**, 592, 1913.
[3]) *Bernhardt*, Zeitschr. f. klin. Med. **98**, 51, 1924.
[4]) *Cori* und *Pucher*, The Amer. Journ. of Roentg. **10**, 738, 1923.

IV. Der Quotient der äquivalenten Konzentrationen von K, Ca, P.

Daß zur Berechnung des Ionengleichgewichts gerade K, Ca, P herangezogen werden, hat seine Begründung in dem Umstande, daß sich bisher für eben diese Ionen ein wohlabgegrenzter Einfluß auf die Erregbarkeit des Atemzentrums feststellen ließ[1], und daß tatsächlich bei meinen Versuchspersonen regelmäßig eine Erregbarkeitssteigerung des Atemzentrums unter Strahleneinwirkung nachgewiesen werden konnte[2]. Obschon die übrigen Ionen das gesamte Ionengleichgewicht modifizieren, ist doch das Übergewicht der besonders herausgehobenen Ionen K, Ca, P entscheidend. Die Berechtigung, diesem Teilgleichgewicht eine ausschlaggebende Rolle zuzusprechen, wird nicht nur durch die eigenen Versuche, die bei den angewendeten Höchstdosen von Strahlen regelmäßige Ionenverschiebungen festgestellt haben, sondern auch durch die Angaben der Literatur beleuchtet. Im besonderen werden die großen Schwankungen, welche sich bei den Werten *Essingers* und *Györgys*[3]) auch innerhalb gleicher Dosen bemerkbar machen, durch Umrechnung auf den Verhältniswert der äquivalenten Konzentrationen plötzlich erklärbar. Die *Essinger* und *György* entgangene, versteckte Gesetzmäßigkeit in der scheinbaren Willkürlichkeit wird deutlich.

Es erscheint zweckmäßig, die Werte *Essinger* und *Györgys* umgerechnet hier kurz einzufügen (Tabelle I). Berücksichtigt sind die Endwerte 24 Stunden nach der letzten Bestrahlung bei denjenigen Fällen, wo K, Ca, P gleichzeitig bestimmt wurden. Zunächst die Richtung der unter Strahlenwirkung aufgetretenen endgültigen K-, Ca-, P-Verschiebung (+ oder —); dann

Tabelle I (entnommen den Tabellen 1 bis 3 *Essinger* und *Györgys*).

Nr.		Schwache Dosen										Mittlere Dosen						
		6	7	10	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
1	K	—	+	—	—	—	+	—	—	±	—	+	+	—	+	—	—	+
2	Ca	—	+	±	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—	—	—	—	+
3	P	+	—	+	+	—	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+	+	—
4	*Q*	2,42	1,87	2,15	$1{,}20_5$	2,46	1,61	1,94	1,00	0,84	1,72	1,35	1,21	1,70	1,16	1,74	1,36	2,78
5	*Q'*	2,42	2,20	2,31	1,33	2,53	1,54	1,82	1,81	$1{,}07_7$	2,23	$1{,}40_5$	1,10	2,80	1,38	2,18	1,64	2,40
6	*Qä*	—0	+ 17,7	+ 7,3	+ 10,3	+ 5,4	—4,2	—8,7	+ 81,0	+ 28,2	+ 29,6	+ 3,7	—9,2	+ 65,0	+18,9	+25,3	+21,0	—14,0

[1]) *Kl. Gollwitzer-Meier*, diese Zeitschr. 1924.
[2]) *Kroetz*, I. Mitteilung; ebendaselbst 1924.
[3]) *Essinger* und *György*, ebendaselbst **149**, 344, 1924.

der Quotient der äquivalenten Konzentration eben dieser Ionen vor (Q) und 24 Stunden nach der letzten Bestrahlung (Q'); endlich zeigt $Q_{ä}$ die prozentuale unter Strahlenwirkung aufgetretene Veränderung an.

Es ergibt sich, daß zwölfmal der genannte Quotient zunimmt, viermal abnimmt, einmal unverändert bleibt. Der Durchschnitt aller Werte zeigt eine Vergrößerung des Quotienten um 21,5 Proz.

Für die *eigenen Versuche* betrug die Zunahme bei Ultraviolettlicht 20 bis 59 Proz., für Röntgenstrahlung 29 bis 59 Proz. Sie sind in der ersten Mitteilung tabellarisch wiedergegeben und im Zusammenhang mit der gemessenen gleichzeitigen Erregbarkeitssteigerung des Atemzentrums ausführlich besprochen.

Die Erhöhung des Verhältniswertes der äquivalenten Konzentrationen von K, Ca, P ist somit als eine regelmäßige und grundlegende Reaktion des bestrahlten Körpers zu bezeichnen. Kein Unterschied in der Richtung der Beeinflussung ist für verschiedene Strahlendosen nachweisbar.

Zusammenfassung.

Die ultravioletten und Röntgenstrahlen führen zu gleichsinnigen Veränderungen des Wasser-, Salz- und Eiweißbestandes des Serums. Der Wassergehalt steigt im Frühstadium der Strahlennachwirkung in der Mehrzahl der Fälle an, um nach 24 Stunden sich wieder dem Ausgangswert zu nähern. In einer kleineren Zahl von Fällen fehlt die initiale Verdünnung, es folgt eine stärkere spätere Eindickung. Durch Umrechnung auf konstanten Wassergehalt ergibt sich, wie immer die Richtung der Wasserverschiebungen geartet ist, regelmäßig eine wahre Hypochlorämie und Natriumzunahme im Serum. Sie beide vor allem sind ausschlaggebend für den auftretenden Anstieg des Anionendefizits, welcher unter Strahlenwirkung ein Drittel bis die Hälfte des Ausgangswertes beträgt. Die Bewegungen der quantitativ in der Serumbilanz zurücktretenden K-, Ca- und P-Ionen sind bei verschiedenen Strahlenmengen teilweise verschieden. Nur bei den stärksten Dosen ist eine Regelmäßigkeit nachweisbar: K und P nehmen zu, Ca nimmt etwas ab, wobei die Verminderung des ionisierten, wirksamen Ca jedoch höher zu bewerten ist, als sie in den Zahlen des Gesamtkalkes zum Ausdruck kommt. Für den biologischen Effekt der Strahlen wesentlich ist nicht die Verschiebung des einen oder anderen Ions, sondern die Umstellung des Gleichgewichtes der gesamten Ionen, innerhalb dessen das Teilverhältnis der äquivalenten Konzentrationen $Q = \frac{K^{\cdot} \times (H_2PO_4' + HPO_4'')}{Ca^{\cdot\cdot}}$ von maßgebender Bedeutung ist. Die Erhöhung dieses Quotienten wird als eine regelmäßige und wichtige Reaktion des bestrahlten Körpers nachgewiesen. Sie zeigt sich unabhängig von der verwendeten Strahlenmenge. Am Eiweißbestande

des Serums spielt sich sowohl bei Ultraviolettlicht als bei Röntgenbestrahlung eine qualitative, wahrscheinlich auch quantitative Umstellung ab; sie äußert sich in den Bewegungen des Serumrefraktionswertes. Im Zusammenhang mit den Änderungen der Blutreaktion ermöglichen es diese Feststellungen, zu konkreteren Anschauungen über die physikalisch-chemischen Veränderungen zu gelangen, welche unter Strahlenwirkung an den Zellen des Einfallsortes und des Gesamtkörpers ablaufen.

Protokolle.

1. *He.* Ultraviolettlicht. I. Eosinsensibilisierung, Körperstamm vorn und hinten je 20′ bestrahlt, 60 cm Lampenabstand. II. Ohne Eosinsensibilisierung, Körperstamm vorn und hinten je 15′ Minuten bestrahlt. 60 cm Lampenabstand.

Bestrahlung	ϑ	Refraktion	Trockensubstanz	Cl	HCO_3 als Vol.-Proz. gebund. CO_2	P anorg.	Na	K	Ca	Äquivalente Anionen	Äquivalente Kationen	Anionendefizit absolut	Anionendefizit Proz.	Anionendefizit proz. Änderung	$Q = \frac{K \times P}{Ca}$ absolut	Q proz. Änderung
Vor 1.	—0,58	57,7	9,32	591	45	—	301 301	19,8 19,6	9,9 10,3	0,1214	0,1409$_9$	0,0195$_9$	13,9	—	1,0	—
25′ nach 1.	—0,56$_5$	58,3	9,01	556	41	—	296 298	24,6 25,0	9,7 9,7	0,1136	0,1403$_0$	0,0267	19,0	36	—	—
72h „ 1.	—0,58$_5$	59,3	9,37	579	52	—	308 304	25,7 25,5	9,3 9,25	0,1204	0,1440$_5$	0,0236$_5$	16,4	18	1,38	38
75 „ 1. 1 „ 2.	—0,57	59,9	9,13	550	46	—	301 300	26,7 26,3	9,0 9,0	0,1149	0,1419$_9$	0,0270$_9$	19,1	37	—	—
21 „ 2.	—0,58	60,2	9,34	556	50	—	310 308	26,6 26,0	9,1 9,1	0,1177	0,1456$_3$	0,0279$_3$	19,2	38	1,48	48

2. *Mei.* Ultraviolettlicht. Ohne Eosin. Körperstamm vorn und hinten je 30′. 50 cm Lampenabstand.

	ϑ	Refraktion	Trockensubstanz	Cl	HCO_3 als Vol.-Proz. gebund. CO_2	P anorg.	Na	K	Ca	Äquivalente Anionen	Äquivalente Kationen	Anionendefizit absolut	Anionendefizit Proz.	Anionendefizit proz. Änderung	$Q = \frac{K \times P}{Ca}$ absolut	Q proz. Änderung
Vor Bestrahl.	—0,58	62,2	9,15	597	53	—	295 293	23,0 23,2	11,7 11,6	0,1260$_5$	0,1385$_4$	0,0114$_9$	8,3	—	1,01	—
70′ nach Bestr.	—0,57$_5$	63,5	9,22	579	47	—	303 304	24,6 25,0	11,3 11,5	0,1203	0,1438	0,0235	16,3	96	—	—
25h „ „	—0,58$_5$	63,7	9,31	579	54	—	308 308	25,3 25,0	11,4 11,4	0,1231$_3$	0,1461$_3$	0,0201$_5$	15,7	87	1,13	12

	δ	Refraktion	Trockensubstanz	Cl	HCO_3 als Vol.-Proz. gebund. CO_2	P anorg.	Na	K	Ca	Äquivalente Anionen	Äquivalente Kationen	Anionendefizit absolut	Anionendefizit Proz.	Anionendefizit proz. Änderung	$Q = \frac{K \times P}{Ca}$ absolut	Q proz. Änderung
3. *Egg.* Ultraviolettlicht. 60′ Körperstamm, vorn und hinten je 30′. 50 cm Abstand.																
Vor Bestrahl.	—0,57	56,6	8,92	579 579	46	2,8	301 301	21,5 21,6	9,6	0,1212	0,1412	0,0200	14,2	—	1,61	—
$1^1/_2$h n. Bestr.	—0,57$_5$	59,1	9,18	556 556	49	3,4	310 312	25,3 25,3	9,0	0,1189$_5$	0,1460$_9$	0,0271$_4$	18,6	31	2,38	—
20 „ „	—0,58	59,4	9,21	568 568	48	3,3	312 312	26,7 —	8,8	0,1204$_5$	0,1468	0,0263$_5$	17,9	26	2,56	59
4. *Zi.* Ultraviolettlicht. 40′ Körperstamm, vorn und hinten je 20′. 70 cm Abstand.																
Vor Bestrahl.	—0,57	61,2	9,43	585	52	3,1	307 313	22,2	9,0	0,1250	0,1448	0,0198	13,7	—	1,87	—
$^1/_2$h nach Bestr.	—0,55	61,9	9,01	556	44	3,32	306 307	23,2	9,3	0,1166	0,1436	0,0270	18,7	36	—	—
24 „ „	—0,56	62,6	9,39	561	49	3,24	312 312	23,4	8,5	0,1199	0,1458	0,0258$_8$	17,7	29	2,30	23
123 „ „	—0,56$_5$	62,0	9,37	570	48	3,30	311 311	28,5	8,55	0,1209$_5$	0,1467$_9$	0,0258$_4$	17,6	28	2,80	49
5. *Ze.* Röntgenbestrahlung. Kankroid der Unterlippe. Drüsen in linker Halsgegend. Feld: linke Halsseite, 10 × 12 cm; 1 Fernfeld 50 cm Abstand; 1 HED; 144 kV, 2 MA.																
Vor Bestrahl.	—0,58	58,6	8,76	614	43	—	298 299	20,6 20,9	10,7 10,5	0,1246	0,1405	0,0159	11,3	—	1,0	—
20′ nach Bestr.	—0,56	58,9	8,41	573	31	—	281 287	24,5 24,9	9,84 9,80	0,1120	0,1343	0,0223	16,6	47	1,29	—
22h „ „	—0,57$_5$	59,9	8,69	579	45	—	293 299	25,1 24,7	9,99 10,09	0,1194	0,1404	0,0210	14,9	32	1,27	27

	δ	Refraktion	Trockensubstanz	Cl	HCO_3 als Vol.-Proz. gebunden. CO_2	P anorg.	Na	K	Ca	Äquivalente		Anionendefizit			$Q = \frac{K \times P}{Ca}$	
										Anionen	Kationen	absolut	Proz.	proz. Änderung	absolut	proz. Änderung
6. *Ka*. Mammacarcinom. Röntgenbestrahlung. Linkes Brustfeld (12 × 12 cm); 1 Fernfeld 50 cm Abstand; 1 HED; 144 kV; 2 MA.																
Vor Bestrahl.	—0,595	58,1	8,15	643	42	—	321 317	19,7	9,6 9,4	0,1290	0,1488$_3$	0,0198$_3$	13,3	—	1,06	—
45′ nach Bestr.	—0,565	59,0	7,67	597	32	—	304 300	24,1 24,5	8,9 8,8	0,1165	0,1419$_5$	0,0254$_5$	17,9	35	1,40	—
26h „ „	—0,585	59,7	8,03	603	47	—	316 313	24,7 24,2	9,1 8,9	0,1243	0,1477$_6$	0,0234$_6$	15,8	19	1,39	30
7. *Neu*. Mammacarcinom. 4 Röntgen-Bestrahlungen, je 1 Fernfeld, 50 cm Abstand, 36′; 106 kV, 2 MA.																
Vor	—0,58	60,4	9,03	597	40,5	—	288 288	20,5 20,0	10,0 10,1	0,1202	0,1354	0,0152	11,2	—	1,04	—
45′ nach 1. Bestrahlung	—0,57	61,5	8,97	579	34,0	—	281 285	25,6 26,3	9,25 9,05	0,1144	0,1342$_8$	0,0198$_8$	14,8	32	—	—
22h „ 1. Bestrahlung	—0,58	61,7	9,07	585	40,7	—	290 293	25,9 —	9,35 9,31	0,1185	0,1383$_1$	0,0190$_1$	13,7	22	1,45	40
25 „ 1. 45′ „ 2. Bestrahlung	—0,58	62,3	9,01	585	36,5	—	294 295	26,2 26,8	9,40 9,48	0,1165	0,1395$_6$	0,0230$_5$	16,5	47	—	—
20h „ 2. Bestrahlung	—0,59	62,1	9,29	573	48,6	—	296 301	26,7 27,1	9,36 9,44	0,1201	0,1406	0,0205	14,6	30	1,50	44
22 „ 2. 1 „ 3. Bestrahlung	—0,57$_5$	62,7	9,01	567	38,0	—	287 293	29,7 29,1	8,8 8,72	0,1143	0,1378$_2$	0,0235$_2$	17,1	52	—	—
72 „ 3. Bestrahlung	—0,59	62,4	9,31	579	47,0	—	297 302	27,9 28,3	9,02 8,91	0,1203	0,1417$_9$	0,0214$_9$	15,1	34	1,66	59
75 „ 3. 1 „ 4. Bestrahlung	—0,57$_5$	63,7	9,04	561	35,3	—	285 277	29,3 29,5	8,16 8,20	0,1120	0,1339$_4$	0,0220$_4$	16,5	47	—	—

Zur Frage nach dem Mechanismus der Darmsekretion.

III. Mitteilung:

Über die Einwirkung des Carnosins auf die Darmsekretion.

Von

S. A. Komarow.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Riga.)

(Eingegangen am 12. August 1924.)

Das Carnosin ist neben dem Kreatin einer der Hauptbestandteile des Muskelgewebes, welcher aber bis vor nicht langer Zeit gänzlich übersehen worden ist. Diese zuerst von *Gulewitsch* und *Amiradžibi* (1) im Liebigschen Fleischextrakt im Jahre 1900 entdeckte Substanz wurde bald darauf von *Krimberg* (2) auch aus den Muskeln eines soeben geschlachteten Stieres isoliert, wodurch der Nachweis erbracht worden war, daß das Carnosin als ein intravitales Stoffwechselprodukt des Muskelgewebes anzusehen ist. Weitere Untersuchungen haben gezeigt, daß diese Substanz im Tierreich weit verbreitet ist.

Das Vorkommen dieser Base ist im Fleische des Kalbes [*Skworzow* (3)], Rindes, Pferdes, Schweines, Hammels [*Smorodinzew* (4a)], des wilden Kaninchens [*Joschimura* (5)], sowie im Fleische einiger Fische, Krabben und Austern [*Susuki*, *Joschimura*, *Jamakawa* und *Irie* (6)] festgestellt worden. Nach *Clifford* (7) ist das Carnosin bei allen von ihm untersuchten Mammalien, bei vielen Vögeln, bei Amphibien und Reptilien vorhanden, bei manchen Vögeln und Fischen dagegen und bei den Invertebraten wurde dasselbe vermißt. Endlich ist das Carnosin auch aus den Skelettmuskeln des Menschen [*Smorodinzew* (4b)], sowie aus der normalen und pathologisch veränderten Herzmuskulatur des Menschen [*Bubanović* (8)] isoliert worden. Bei der so großen Verbreitung des Carnosins im Tierreich ist auch sein Gesamtgehalt im Körper eines jeden einzelnen Tieres, wie zuerst von *Krimberg* (2) festgestellt wurde, ebenfalls eine sehr beträchtliche. Die vom genannten Autor aus den frischen Muskeln eines Stieres isolierte Menge des Carnosins betrug 0,13 Proz., obwohl die von ihm angewandte Methode als Hauptziel nicht ein streng quantitatives Studium des Fleischextraktes verfolgte. In ungefähr denselben quantitativen Verhältnissen wurde späterhin das Carnosin unter Anwendung im wesentlichen derselben Präzipitationsmethode auch von anderen Autoren und in verschiedenen anderen Fleischarten [Kalb 0,176 Proz. (3), Pferd 0,182 Proz., Hammel

0,096 Proz. (4a)], sowie in den Muskeln des Menschen [0,164 Proz. (4b)] gefunden. Weitere in dieser Richtung und hauptsächlich unter Anwendung der in *Fürths* Laboratorium ausgearbeiteten kolorimetrischen eventuell etwas modifizierten Bestimmungsmethoden ausgeführten Untersuchungen lieferten in den Händen verschiedener Autoren noch höhere Carnosinwerte, z. B. in den Skelettmuskeln des Pferdes, Schweines (9) und Hundes (10), im Durchschnitt etwa 0,3 Proz., in den verschiedenen Muskeln der Katze (11) sogar 0,35 bis 1,8 Proz. und endlich im Herzmuskel des Menschen (8) ebenfalls etwa 0,2 bis 0,3 Proz. Es muß jedoch in Betracht gezogen werden, daß mit Hilfe der kolorimetrischen Methode und besonders mit Hilfe der meist benutzten Diazokolorimetrie neben dem Carnosin sicher auch andere in der Carnosinfraktion enthaltene Histidinderivate unvermeidlich mitbestimmt werden[1]).

Alle diese Befunde legten natürlich die Vermutung nahe, daß dem Carnosin im Haushalt des Organismus eine große Bedeutung zukommen müßte. Die Untersuchungen, welche in *Krimbergs* Laboratorium zur Prüfung der etwaigen physiologischen Bedeutung des Carnosins unternommen worden waren, erwiesen bald, daß dieser Bestandteil des Muskelgewebes die typischen Eigenschaften der Hormone besitzt (14). Nach den im genannten Laboratorium von *A. Korchoff* (14) ausgeführten Versuchen ist das Carnosin als ein energischer Erreger der Magensekretion zu betrachten, welcher außerdem noch eine ausgeprägte allgemeine Wirkung auf den Organismus entfaltet.

Aus diesem Grunde war das Studium der eventuellen Bedeutung des Carnosins auch für die sekretorische Tätigkeit der Darmdrüsen von ganz besonderem Interesse.

Die von uns zu diesem Zweck angewandten Präparate des Carnosins wurden stets aus den Muskeln soeben getöteter Rindtiere isoliert. Der nach dem ursprünglich von *Gulewitsch* und *Amiradžibi* (1) beschriebenen Verfahren erhaltene Silberbarytniederschlag wurde auf die übliche Weise mit Schwefelwasserstoff zersetzt und das Filtrat vom Schwefelsilber — „sogenannte Carnosinfraktion" — zur weiteren Reinigung mit 10proz. Quecksilbersulfatlösung in 5proz. Schwefelsäure ausgefällt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, gewaschen, mittels Schwefelwasserstoff zersetzt, und das Filtrat mittels Bariumhydroxyd von Schwefelsäure quantitativ befreit. Die auf dem Wasserbade zu dünnflüssigem Sirup eingeengten freien Basen wurden endlich mit warmem Alkohol bis zur Entstehung einer milchigen Trübung versetzt. Nach Entfernung der zuerst ausfallenden dunkelbraun bis hellgelb gefärbten sirupösen Massen und nach weiterer Zufügung von heißem Alkohol bildeten sich bei langsamer Abkühlung der Lösung in reichlicher Menge Carnosinkristalle in typischen Drusen vereinigt. Nach mehrfachem Umkristallisieren aus 80- bis 90proz. heißem Alkohol zersetzten sich die so erhaltenen Präparate des freien Carnosins bei 249 bis 250° C (15). In einigen Versuchen benutzten wir auch Carnosinpräparate, welche, obwohl schon ziemlich rein, jedoch zwecks Befreiung von eventuellen Verunreinigungen mit Substanzen hauptsächlich des Histamintypus noch

[1]) Siehe auch die Arbeiten von *Mauthner* (12), *Hunter* (13).

im Soxhlet mit Alkohol und Chloroform — je 8 Stunden lang — extrahiert und erst dann aus verdünntem Alkohol endgültig umkristallisiert worden waren.

Die zur Einverleibung bestimmten Carnosinlösungen wurden jedesmal unmittelbar vor deren Einführung zubereitet. Eine abgewogene Menge der im Vakuumexsikkator bis zum konstanten Gewicht getrockneten Substanz wurde in einer möglichst geringen Menge frisch umdestillierten lauwarmen Wassers gelöst; die stark alkalische Lösung mittels n/1-Salzsäure bis zur schwach alkalischen oder neutralen Reaktion gebracht, mit Wasser bis zum nötigen Volumen aufgefüllt und durch hartes schwedisches Papier filtriert. In einigen Fällen wurde diese Zubereitung der Lösungen schon bei Zimmertemperatur möglichst steril durchgeführt; in anderen Fällen dagegen wurden die neutralen Carnosinlösungen auf freiem Feuer bis zum Sieden erwärmt oder auf 5 Minuten in kochendes Wasser eingetaucht, wodurch ebenfalls eine für unsere Zwecke befriedigende Sterilisation derselben erzielt werden konnte.

Der Einfluß des Carnosins auf die Darmsekretion wurde von uns durch Einführung dessen Lösungen meistens intravenös, seltener subkutan an fünf auf verschiedene Weise operierten Hunden studiert. Drei von diesen Hunden (Hund 1: *Thiry-Vella*sche Fistel des oberen Jejunums und einfache Magenfistel; Hund 2: auf die gleiche Weise operiert; Hund 3: *Thiry-Vella*sche Jejunumfistel) sind näher schon in meiner ersten Mitteilung beschrieben worden[1]); die genauere Beschreibung der zwei anderen Hunde (Hund 4: Seitenfistel des Duodenums und des oberen Jejunums nach *Pawlow-Glinski* und Hund 5: *Thiry*sche Darmfistel des mittleren Jejunums mit durchgetrennten mesenterialen Nerven, sogenannte „nervenlose Darmfistel" nach *Bickel*) wird im Zusammenhang mit den entsprechenden Versuchsprotokollen angeführt.

Die erste Reihe von Versuchen wurde an den nur mit einer *Thiry-Vella*schen Fistel im Jejunum versehenen Hunden (ohne Magenfistel) angestellt.

In unserem ersten Versuch wurde das Carnosin in einer Dosis 0,06 g pro Kilogramm intravenös bei völliger Ruhe der Darmdrüsen eingeführt. Etwa 5 Minuten nach der Injektion wurden lebhafte Bewegungen der in die Haut eingenähten Darmteile sichtbar, und unmittelbar darauf, also nach einer latenten Periode von 5 bis 6 Minuten, zeigte sich aus der Fistelöffnung der erste Tropfen eines dünnflüssigen Darmsaftes. Die Sekretion nahm sehr rasch — im Laufe von etwa 1 bis 2 Minuten — an Intensität stark zu und verblieb auf der gleichen Höhe während etwa 30 Minuten. Im Laufe weiterer 40 Minuten nahm dieselbe ganz allmählich ab, um nach etwa 80 Minuten nach der Injektion zu sistieren. Kurz darauf stellte sich wieder eine gewöhnliche periodische Tätigkeit der Darmdrüsen, wie in der Kontrollperiode, ein. Die Menge des nach der Einverleibung des Carnosins abgeschiedenen Darmsaftes betrug etwa 17,2 ccm, obwohl dieses Sekret deutlich

[1]) Diese Zeitschr. **146**, 130, 1924.

Versuch 1.

Hund 1. (*Thiry-Vella*sche Jejunumfistel.) Gewicht 10,1 kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 6 Uhr nachmittags.

Zeit	Darmsaft: Menge ccm	Darmsaft: Fermentgehalt[1]	Puls	Bemerkungen
11h30'	—	Diastase $d\,\frac{37^0}{30'}$ = 24; Erepsin . . . . . 4,8; Lipase . . . . . 2,0 (11h30'–12 34—35')	120—130 (11h30'–12 30)	Beginn der Beobachtung (Unruhig, 11h30'–12 20)
11 40	0,1			
11 50	0			
12 00	0,1			
12 10	0			
12 20	1,9			Knurren in den Gedärmen
12 30	1,4			
12 34—35'	0		132—160	*Injektion 0,6 g Carnosin*, intravenös (10 proz. Lösung)
12 39'	—		—	Darmbewegungen in den Fistelöffnungen (Ruhig, 12 39'–1 50)
12 40	—		160	Beginn der Darmsaftabsonderung
12 50	4,5	Diastase $d\,\frac{37^0}{30'}$ = 12; Erepsin . . . . 2,4; Lipase 0,8 (12 50–1 50)	160	Häufige peristaltische Bewegungen in den Fistelöffnungen und Knurren in den Gedärmen (12 50–1 50)
1 00	4,5		160	
1 10	4,3		175	
1 20	2,7		145	
1 30	0,7		125	
1 40	0,3		125	
1 50	0,2		130	
1 53	0		150	Stuhldrang (Unruhig, 1 53–4 00)
2 00	0,7		140	Stuhldrang
2 10	0,3		150	Stuhlentleerung
2 20	2,0		140	
2 30	0,3		130	Knurren in den Gedärmen
2 35	0		130	
2 50	0		130	
3 00	0		130	
3 10	0		125	
3 20	0		125	
3 30	0		130—120	
3 40	0		130—120	
3 50	0,6		130—120	Knurren in den Gedärmen
4 00	0		130—120	

fermentärmer als der „periodische" war; die Totalmenge der in demselben enthaltenen Fermente erwies sich jedoch mehreremal größer als in dem während der gleichen Beobachtungsdauer in der Kontrollperiode ausgeschiedenen Darmsaft. Neben der Darmsekretion waren auch noch lebhafte peristaltische Bewegungen der Darmwand in den Fistelöffnungen und öfteres Knurren in den Gedärmen — insbesondere auf der Höhe der Carnosinwirkung, später mehrfacher Stuhldrang und schließlich Stuhlabgang, also unzweifelhafte Zeichen einer erheblich gesteigerten Darmmotilität zu beobachten. Endlich war auch noch

[1]) In diesem wie in den weiteren Versuchen wurde *Diastase* nach der bekannten Methode von *J. Wohlgemuth*, — *Invertin*, *Lipase* und *Erepsin* genau wie in meinen Mitteilungen I und II angegeben, bestimmt.

eine deutliche Wirkung des Carnosins auf den Zirkulationsapparat zu bemerken; bald nach der Injektion trat nämlich eine mäßige Beschleunigung des Pulses ein (von 130 vor bis 170 nach der Injektion), wobei derselbe schwach gespannt wurde; etwa 40 Minuten nach der Einverleibung des Carnosins gewann der Puls seinen gewöhnlichen Charakter wieder.

Wie die weiteren Versuche zeigten, ist das soeben geschilderte Wirkungsbild des Carnosins als typisch, die angewandte Dosis aber als hoch, jedoch noch nicht toxisch zu bezeichnen.

Aus diesem Grunde wurde die größte Anzahl der zum näheren Studium des Mechanismus der Carnosinwirkung gerichteten Versuche unter Anwendung von Dosen 0,02 bis 0,04 g pro Kilogramm, welche als mittelgroße anzusehen sind, durchgeführt.

In allen diesen Versuchen übte das Carnosin, in den erwähnten mittelgroßen Dosen einverleibt, ohne Ausnahme eine bedeutende exzitosekretorische Wirkung auf die Darmdrüsen aus. In diesen Fällen begann die Sekretion des Darmsaftes, welche in der Kontrollperiode eine typisch periodische gewesen war, 5 bis 6 Minuten nach der Injektion des Carnosins, erreichte im Laufe von weiteren 5 bis 10 bis 15 Minuten ihr Maximum, verringerte sich dann während der folgenden 10 bis 40 Minuten ganz regelmäßig und allmählich im Ausmaße, um nach Ablauf dieser Zeit zu sistieren; weiterhin nahm die Sekretion wiederum den ihr eigentümlichen „periodischen“ Charakter an, genau wie in der Kontrollperiode. Der Sekretionseffekt der Carnosineinverleibung, was die ausgeschiedenen Darmsaftmengen anbetrifft, hängt, außer der eingeführten Carnosinmenge, wie dies besonders klar aus den Versuchen 4 und 5 zu ersehen ist, in gewissem Grade auch davon ab, ob diese Substanz unmittelbar vor der „Tätigkeitsperiode“ (Versuch 4) oder zu Beginn bzw. in der Mitte der „Ruheperiode“ (Versuch 5) eingeführt wurde. Die Menge des abgeschiedenen Darmsaftes ist unter den gleichen anderen Versuchsbedingungen im ersteren Falle nämlich größer, was augenscheinlich dadurch zu erklären ist, daß die exzitosekretorische Wirkung des Carnosins sich mit denjenigen endogenen Erregungen, welche als Ursache der periodischen Drüsentätigkeit gelten, summieren. Mit Steigerung der injizierten Dosis des Carnosins nimmt jedoch auch ganz regelmäßig die Menge des abgesonderten Darmsaftes zu; die Sekretionssteigerung dabei hängt sowohl von der Zunahme der Sekretionsintensität, als auch von der Verlängerung ihrer Dauer ab.

Die Fermentkonzentration im Carnosinsaft ist in der Regel etwas geringer als im periodischen Darmsaft. Diese Konzentrationsverminderung der Fermente ist aber so unbedeutend, daß die Gesamtmenge der unter dem Carnosineinfluß abgesonderten Fermente, verglichen

Versuch 2. Hund 1. (*Thiry-Vella*sche Jejunumfistel.) Gewicht 10 kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 6 Uhr nachmittags.

Zeit	Darmsaft Menge ccm	Darmsaft Fermentgehalt	Puls	Bemerkungen
10h25'	—		—	
10 35	0		—	
10 45	1,4	Diastase $d\frac{37^0}{30'} = 16$; Erepsin . . . . 40 (10 45 – 12 35)	—	
10 55	0,1		—	Knurren in den Gedärmen
11 05	0		—	
11 15	0		—	
11 25	0		—	
11 35	0,1		—	
11 45	0		—	
12 00	0		—	
12 15	1,1		—	Knurren in den Gedärmen
12 25	0,6		—	
12 35	0		90—95	
12 45	0		—	
12 55—1h00'	0	Diastase $d\frac{37^0}{30'} = 12$; Erepsin . . . . 3,2 (12 55 – 2 10)	95—110	*Injektion 0,85 g Carnosin*, intravenös (10 proz. Lösung)
1 00'	—		—	Darmbewegungen in den Fistelöffnungen und Beginn der Darmsaftabsonderung
1 10	3,4		110—115	
1 20	2,2		110—115	Stuhldrang (Häufige peristaltische Bewegungen in den Fistelöffnungen: 1 20 – 1 50)
1 30	1,2		100—95	Stuhldrang
1 40	0,9		90—95	Stuhldrang
1 50	0,2		—	Knurren in den Gedärmen
2 00	0,2		—	Stuhldrang
2 10	0,2		—	Knurren in den Gedärmen
2 20	1,7		—	
2 30	0,1		—	Stuhldrang und Knurren in den Gedärmen
2 33	0		—	Stuhlentleerung
2 40	0		—	
2 50	0		—	
3 00	0		—	

Versuch 3. Hund 1. (*Thiry-Vella*sche Jejunumfistel.) Gewicht 10 kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 5 Uhr nachmittags.

Zeit	Darmsaft Menge ccm	Darmsaft Fermentgehalt	Puls	Bemerkungen
11h20'	—	Diastase $d\frac{37^0}{30'} = 16$; Erepsin . . 4,0 (11h20' – 11 50)	70	Beginn der Beobachtung (Ruhig: 11h20' – 11 50)
11 25	0		70	
11 30	2,7		70	
11 40	0,3		70	
11 50	0,2		70	
11 55—56'	0		70—90	*Injektion 0,3 g Carnosin*, intravenös (10 proz. Lösung)
12 00'	0		95	Darmbewegungen in den Fistelöffnungen; Beginn der Darmsaftabsonderung
12 05	0,6	Diastase $d\frac{37^0}{30'} = 12$; Erepsin . . . 3,2 (12 05 – 12 55)	95	
12 15	3,6		95	Darmbewegungen in den Fistelöffnungen und häufiges Knurren in den Gedärmen (12 15 – 12 45); Ruhig (12 15 – 1 25)
12 25	1,3		95	
12 35	0,6		100	
12 45	0,2		100	
12 55	0,1		90	
1 05	0,1		80	
1 15	0,1		90	
1 25	0,3		85	
1 35	1,2		105	Stuhlentleerung (Unruhig: 1 35 – 2 15)
1 45	0,5		90	
1 55	0,9		85	
2 05	0,3		90	
2 15	0		85	

Versuch 4. Hund 1. (*Thiry-Vella*sche Jejunumfistel.) Gewicht 10 kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 5 Uhr nachmittags.

Zeit	Darmsaft Menge ccm	Darmsaft Fermentgehalt	Puls	Bemerkungen	
11h10'	—	Diastase $d\,\frac{37^0}{30'} = 12$; Erepsin . . . 3,2	70	Beginn der Beobachtung	Ruhig
11 20	1,2		80		
11 30	0,4		80	Knurren in den Gedärmen	
11 40	0,4		80		
11 50	0,3		80		
12 00	0		80		
12 10	0		80		
12 20	0		80		
12 25—26'	0		90	*Injektion 0,16 g Carnosin*, intravenös (10 proz. Lösung)	
12 30'	0	Diastase $d\,\frac{37^0}{30'} = 16$; Erepsin . . 4,0	90	Beginn der Darmsaftabsonderung	
12 35	2,5		100	Darmbewegungen in den Fistelöffnungen	Sehr unruhig
12 45	1,8		?	Knurren in den Gedärmen	
12 55	0,4		?		
1 05	0		120		
1 15	0		120		
1 25	0		120	Stuhlentleerung	
1 35	0		120	Stuhlentleerung	
1 45	0		120		
2 00	0		120		
2 10	0,5		120		
2 20	0,6		120		
2 30	0		120	Knurren in den Gedärmen	
3 00	0		120		

Versuch 5. Hund 1. (*Thiry-Vella*sche Jejunumfistel.) Gewicht 10 kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 5 Uhr nachmittags.

Zeit	Darmsaft Menge ccm	Darmsaft Fermentgehalt	Puls	Bemerkungen
10h30'	—	Diastase 16	—	„Tätigkeitsperiode", Knurren i. den Gedärmen
10 40	1,0		—	
10 50	0,2		—	
11 00	0		—	
11 10	0		—	
11 20	0		—	
11 30	0		—	
11 40	0,1		—	
11 50	0,1		—	
12 05	0,1		—	
12 15	2,0		—	„Tätigkeitsperiode", Knurren i. den Gedärmen
12 25—26'	0,1		—	*Injektion 0,2 g Carnosin* (10 proz. Lösung), intravenös (ein geringer Teil gelangte auch unter die Haut)
12 30'	0	Diastase 16	—	Darmbewegungen in den Fistelöffnungen; Beginn der Darmsaftabsonderung
12 40	1,8		—	Darmbewegungen in den Fistelöffnungen; Knurren in den Gedärmen
12 50	0,5		—	
1 00	0,1		—	
1 10	0,1		—	
1 20	0,1		—	
1 30	0		—	
1 40	0,1		—	
1 50	0,1		—	„Tätigkeitsperiode", Knurren i. den Gedärmen
2 00	2,2		—	
2 10	0,2		—	
2 20	0,2		—	
2 30	0		—	

Versuch 6.

Hund 3. (*Thiry-Vella*sche Jejunumfistel.) Gewicht 8 kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 9 Uhr morgens.

Zeit	Darmsaft		Puls	Bemerkungen
	Menge ccm	Fermentgehalt		
1h00'	—		—	Beginn der Beobachtung
1 15	0,5		—	
1 30	0,5		—	
1 45	0		—	
2 00	0		—	
2 15	0		—	
2 30	0		—	
2 45	0		—	
3 00	0		—	
3 15	0		—	
3 30	0		95	
3 45	0		100	*Injektion 0,2 g Carnosin*[1]) (4proz. ohne Erwärmung zubereitete Lösung), subkutan
				Beginn der Darmsaftabsonderung
3 52	↗		110	Häufige Darmbewegungen in den Fistelöffnungen Knurren in den Gedärmen (3 52 – 4 15)
4 05	2,9	Lipase 2,3 Invertin 1,93 (4 05 – 4 10)	120	
4 10	0,5		120	
4 15	0		90	
4 30	0		95	
4 45	1,8	Lipase 3,9 Invertin 2,11 (4 45 – 7 30)	100	
5 00	0,3		95	
5 15	0		—	
5 30	0,3		—	
5 45	0		—	
6 00	0		—	
6 15	0		—	
6 30	0		—	
6 45	1,4		—	
7 00	0,7		—	Knurren in den Gedärmen
7 15	0,2		—	
7 30	0		—	

mit der Menge derselben, welche während der gleichen Zeitdauer in der Kontrollperiode sezerniert wurde, als eine bedeutend größere erscheint.

Die Einwirkung des Carnosins auf die Darmsekretion ist im wesentlichen unabhängig davon, ob dasselbe intravenös oder subkutan einverleibt wird; es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß bei der direkten Einführung des Carnosins ins Blut die abgeschiedene Menge des Darmsaftes gewöhnlich etwas größer ist und der Gang der Sekretion einen viel regelmäßigeren Verlauf hat als bei subkutaner Applikation. Bei der letzteren nämlich dauert die latente Periode nicht immer 5 bis 6 Minuten, sondern die Sekretion beginnt manchmal auch bedeutend später (sogar nach 20 Minuten) und zieht sich merkbar in die Länge, wobei sie sich auf einer relativ niedrigeren Höhe hält.

[1]) Präparat mit Alkohol und Chloroform behandelt.

Versuch 7.

Hund 3. (*Thiry-Vella*sche Jejunumfistel.) Gewicht 8 kg.
Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 9 Uhr morgens.

Zeit	Darmsaft Menge ccm	Darmsaft Fermentgehalt	Puls	Bemerkungen
12h00'	—		—	Beginn der Beobachtung
12 15	2,1		—	
12 30	0,4		—	
12 45	0		—	
1 00	0,5		—	
1 15	0		100	
1 30	0,5		110	
1 45	0		110	
2 00	0		120	*Injektion 0,16 g Carnosin*[1] (4proz. ohne Erwärmung zubereitete Lösung), subkutan
2 05	↗		145	Beginn der Darmsaftabsonderung
2 15	0,2	Erepsin 9,0, Lipase 2,35, Invertin 1,87 (2 15–4 00)	130	
2 30	1,3		110	Häufige peristaltische Darmbewegungen in den Fistelöffnungen; Knurren in den Gedärmen sehr oft; beleckt sich zeitweise; sehr unruhig
2 45	0,5		110	
3 00	1,7		110	
3 15	1,0		110	
3 30	0,3		120	
3 45	1,0		110	
4 00	0,6		110	
4 15	0		120	
4 30	0		120	
4 45	0	Erepsin 9,2, Lipase 4,1, Invertin 1,97 (4 45–7 30)	120	
5 00	1,4		115	Knurren in den Gedärmen (4mal)
5 15	0		110	
5 30	0		110	
5 45	0		110	
6 00	2,6		110	Knurren in den Gedärmen (2mal)
6 15	0		110	
6 30	0		110	
6 45	0		110	
7 00	0		110	
7 15	1,8		110	Knurren in den Gedärmen (3mal)
7 30	0		110	
8 00	0		110	

Neben der Verstärkung der Darmsaftsekretion bewirkt das Carnosin auch in den erwähnten mittleren Dosen eine Steigerung der motorischen Funktion des Darmkanals. Nach Einverleibung des Carnosins wurde stets häufiges Knurren in den Gedärmen, sowie lebhafte Bewegungen der in die Haut eingenähten Darmteile, seltener aber auch Stuhldrang und Stuhlabgang wahrgenommen.

Besondere Aufmerksamkeit wurde der allgemeinen Wirkung des Carnosins zugewandt. Dabei konnten wir aber lediglich eine unbedeutende Pulsbeschleunigung sowie Abnahme seiner Füllung bei Gaben

[1]) Präparat mit Alkohol und Chloroform behandelt.

Versuch 8.

Hund 3. (*Thiry-Vella*sche Jejunumfistel.) Gewicht 8 kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 9 Uhr morgens.

Zeit	Darmsaft Menge ccm	Darmsaft Fermentgehalt	Puls	Bemerkungen
11h30'	—		—	Beginn der Beobachtung
11 45	1,7	Erepsin 15,8	—	Knurren in den Gedärmen (3 mal)
12 00	0		—	
12 15	0		—	
12 30	0		—	
12 45	0,7		—	
1 00	0		—	
1 15	0		—	
1 30	1,0		—	
1 45	0		—	
2 00	0		95—100	
2 15	1,0		—	
2 30	0		120	
2 40	0		130	*Injektion 0,08 g Carnosin*[1]) (4proz. ohne Erwärmung zubereitete Lösung), intravenös
2 45	↗		120	Beginn der Darmsaftabsonderung
3 00	0,8	Erepsin 15,4	110—95	Knurren in den Gedärmen (6 mal)
3 15	0,2		95	
3 30	0,1		100—95	
3 45	0,05		100—95	
4 00	0,05		100—95	
4 15	0,1		100—95	
4 30	0,1		95	
4 45	0		—	
5 00	0		—	
5 15	0,7		—	
5 30	0		—	
5 45	0		—	
6 00	0		—	

Versuch 9.

Hund 3. (*Thiry-Vella*sche Jejunumfistel.) Gewicht 8 kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 5 Uhr nachmittags.

Zeit	Menge des Darmsaftes ccm	Puls	Bemerkungen
12h00'	—	120	Gefüttert
3 00	0	120	Gefüttert
4 00	0	120	
4 10	0	110	*Injektion 0,098 g Carnosin*[1]) (4proz. ohne Erwärmung zubereitete Lösung), intravenös
4 15	↗	110	Beginn der Sekretion
4 30	0,2	110	
6 00	0	110	

[1]) Präparat mit Alkohol und Chloroform behandelt.

größer als 0,03 g pro Kilogramm beobachten. Irgendwelche weitere Reaktionserscheinungen des Organismus gelang es uns jedoch bei Anwendung dieser, sowie nach Einführung sogar der größten überhaupt von uns verwandten Dosen (0,07 g pro Kilogramm) nicht festzustellen, allerdings soweit man darüber ohne Hilfe spezieller Untersuchungsmethoden urteilen konnte.

Da nach den oben erwähnten Versuchen *Korchoffs* das Carnosin als ein energischer Erreger der Magensekretion zu betrachten ist, und da der Magensaft von dem Darmtraktus aus unzweifelhaft einen gewissen Einfluß auf die sekretorische Tätigkeit der isolierten Darmteile, also „par distance“, ausübt[1]), so waren zwecks möglicher Isolierung der zu untersuchenden Darmdrüsen von den genannten „par distance“-Einflüssen spezielle Versuche unerläßlich. Dieselben wurden von uns an Hunden mit *Thiry-Vella*schen Darmfisteln, welchen außerdem noch eine weite Kanüle im Fundusteil des Magens eingenäht worden war, damit der eventuell abgeschiedene Magensaft leicht herausfließen könnte, angestellt.

Die angeführten Protokolle zeigen, daß in diesen Versuchen (Versuche 10—13) das Carnosin die gleiche Reaktion seitens des Drüsenapparates der *Thiry-Vella*schen Fisteln, wie in den schon oben beschriebenen Versuchen, auslöste. Dies bezieht sich wie auf den Gang der Sekretion, so auch auf die Menge und die Eigenschaften des sezernierten Darmsaftes; die allgemeine Wirkung des Carnosins auf den Organismus war gleichfalls dieselbe. Da der gleichzeitig sezernierte Magensaft sofort aus der Magenkanüle und nach unseren Beobachtungen gänzlich herauszufließen imstande war, und da außerdem in der gegebenen Versuchsreihe, sowie im Verlaufe eines jeden Versuchs im einzelnen kein Parallelismus zwischen der Magen- und Darmsekretion beobachtet werden konnte, so muß die unter dem Einfluß des Carnosins ausgelöste Darmsekretion als eine von der Magensekretion unabhängige Erscheinung angesehen werden.

Zu dieser Versuchsreihe gehört gewissermaßen auch eine Beobachtung (Versuch 14) die an einem nach *Pawlow-Glinski* operierten Hunde gemacht wurde.

Nach der Injektion von Carnosin in einer Menge von 0,04 g pro Kilogramm subkutan ergab sich erstens eine bedeutende Ausscheidung der Verdauungssäfte aus der Duodenalkanüle (Magen- und Darmsaft, Galle und möglicherweise auch Pankreassaft), und zweitens eine erhebliche Sekretionssteigerung des reinen Darmsaftes aus der anderen, weiter analwärts im oberen Dünndarm angelegten Kanüle. Dieser Versuch zeigt, daß die Darmdrüsen auf eine Carnosineinverleibung

---

[1]) Siehe meine erste Mitteilung, diese Zeitschr. **146**, 124 und 135, 1924.

Versuch 10. Hund 2. (*Thiry-Vella*sche Jejunumfistel; Magenfistel.) Gewicht 11 kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 1 Uhr nachmittags.

Zeit	Darmsaft Menge ccm	Darmsaft Fermentgehalt	Ausscheidung aus der Magenfistel Menge ccm	Gesamtacidität	HCl	Pepsin nach *Fuld*	Bemerkungen
12h30′	—		—	—	—	—	
12 45	0		1,0	sauer	—	—	
1 00	0		1,0	„	—	—	
1 15	0		2,0	„	—	—	
1 23	0	Lipase 1,8	0	—	—	—	
1 30	0,5		0	—	—	—	
1 40	0,4		1,5	alkalisch	—	—	
1 50	0		1,0	„	—	—	
2 00	0		1,5	„	—	—	Puls 95—100
2 10	0		1,0	„	—	—	
2h24—25′	0		0	—	—	—	*Injektion 0,33 g Carnosin* (5proz. durch Eintauchen auf 5′ in kochendes Wasser sterilisierte Lösung), intravenös
2h30′	0		0	—	—	—	Beginn der Darm- und Magensekretion
2 33	—		—	—	—	—	Puls 145
2 40	5,0	Lipase 1,5	10,0	32	12	30	„ 145 Lebhafte Darmbewegungen in den Fistelöffnungen; häufiges Knurren in den Gedärmen
2 50	1,5		12,0	122	112	40	„ 145
3 00	0		17,0	124	118	40	„ 145
3 10	0		19,0	142	138	40	Puls 120—130
3 20	0		19,0	142	140	40	
3 30	0,5	Lipase 1,8	17,0	140	136	40	
3 40	0,7		15,0	140	136	70	Puls 110—100
3 50	0,9		12,0	144	140	120	
4 00	0,7		6,0	104	92	70	
4 10	0,3		5,0	112	106	80	
4 20	0		4,0	35	18	60	Puls 100—95
4 30	0		2,5	35	18	60	
4 40	0,4		1,5	92	72	60	
4 50	0,1		0,5	sauer	+	—	
5 00	0		0	—	—	—	
5 10	0		0	—	—	—	
5 20	0		0,5	schwach sauer	—	—	
5 30	0		0	—	—	—	

Versuch 11.

Hund 2. (*Thiry-Vella*sche Jejunumfistel; Magenfistel.) Gewicht 11 kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 1 Uhr nachmittags.

Zeit	Darmsaft		Ausscheidung aus der Magenfistel				Bemerkungen
	Menge ccm	Fermentgehalt	Menge ccm	Gesamtacidität	HCl	Pepsin nach *Fuld*	
12h00'	—	—	—	—	—	—	Beginn der Beobachtung
12 10	1,0		—	—	—	—	
12 20	0,2		—	—	—	—	
12 30	0		—	—	—	—	
12 40	0		—	—	—	—	
12 50	0		1,0				
1 00	0	Lipase 1,3	0				
1 10	0		0				
1 20	0		0	7,5	0	16	
1 30	0		1,0				
1 40	0		1,0				
1 50	0,7		1,0				Puls 95—100
1h58'—2h00'	0	—	0	—	—	—	*Injektion 0,33 g Carnosin* (5proz. ohne Erwärmung zubereitete Lösung), intravenös
2h05'	0		0	—	—	—	Beginn der Darmsaftabsonderung
2 20	3,1[1]	Lipase 1,3	3,0				Knurren in den Gedärmen; Puls 95—100
2 30	0		0,5	7,5	0	16	
2 40	0		0,5				
2 50	0		0	—	—	—	
3 00	0		1,8				
3 10	0	—	0,3	10	0	32	
3 20	0	—	0,5				
3 30	0	—	0	—	—	—	

[1]) Ein gewisser Teil des Darmsaftes ist verloren gegangen.

Versuch 12. Hund 2. (*Thiry-Vella*sche Jejunumfistel; Magenfistel.) Gewicht 11 kg.
Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 1 Uhr nachmittags.

Zeit	Darmsaft Menge ccm	Darmsaft Fermentgehalt	Ausscheidung aus der Magenfistel Menge ccm	Gesamtacidität	HCl	Pepsin nach *Fuld*	Puls	Bemerkungen
12h45'	—	—	—	—		—	90	Beginn der Beobachtung
12 55	0		0,5 (Schleim)	alkalisch		—	90	
1 05	0,1	Invertin 2,5	0,4	"		—	100	
1 15	0,3		0,6	"	—	—	85	
1 25	0,1		3,5	"	—	—	95	
1 35	2,1		1,0	"	—	—	100	
1 45	0,1		2,0	"	—	—	120	
1 55	0	—	0,7	"	—	—	100	
2 05	0	—	0,3	"	—	—	120	*Injektion 0,3 g Carnosin* (5proz. ohne Erwärmung zubereitete Lösung), intravenös
2 10	0	Invertin 2,0	3,0	13	0	0	145	Beginn der Darmsaftabsonderung
2 20	2,1		2,0	16	6	16	140	Lebhafte peristaltische Bewegungen in den Darmfistelöffnungen; häufiges Knurren in den Gedärmen
2 30	0,6		1,0	16	6	16	120	
2 40	0		1,0	16	6	16	135	
2 50	0		0,5	16	6	16	125	
3 00	1,9	Invertin 2,3	1,5				95	
3 10	0,4		0,5				95	
3 20	0,2		0				140	
3 30	0		0,2	30	10	32	125	Harnentleerung
3 40	0,4	—	0,3				120	
3 50	0,1	—	2,0				120	
4 00	0,3	—	1,0				110	
4 10	0,3	—	1,2				95	
4 20	0,5	—	1,5	12	0	0	110	
4 30	0	—	0	—	—	—	100	
4 40	0,4	—	0	—	—	—	100	Knurren in den Gedärmen
4 50	0	—	0	—	—	—	100	
5 00	0	—	0	—	—	—	100	

Versuch 13.

Hund 2. (*Thiry-Vella*sche Jejunumfistel; Magenfistel.) Gewicht 11 kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 1 Uhr nachmittags.

Zeit	Darmsaft Menge ccm	Darmsaft Fermentgehalt	Ausscheidung a. d. Magenkanüle	Bemerkungen
10h 20′	—	—	—	
10 40	0	—	3,0	
10 50	0	—	2,0	
11 00	0	—	0	
11 33	0	—	0	Knurren in den Gedärmen
11 40	0,9	—	0	
11 50	0,1	—	0	
11 52—53′	0	—	0	*Injektion 0,03 g Carnosin* (in 5 ccm 0,85 proz. NaCl gelöst), intravenös; ein Teil gelangte auch unter die Haut
12 07′	0	—	0	Beginn der Darmsaftabsonderung
12 15	0,9	Lipase 1,0	0	Knurren in den Gedärmen
12 30	0	—	0	
1 40	0	—	0	
1 50	1,0	Lipase 1,8 (1 50 – 4 00)	0	Knurren in den Gedärmen
3 12	0		0	
3 22	1,5		0	
3 30	1,9		0	Knurren in den Gedärmen
4 00	0		0	

Versuch 14. Hund 4.

(Jejunum- und Duodenumseitenfistel nach *Pawlow-Glinski.*) Gewicht 10 kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 4 Uhr nachmittags.

Zeit	Ausscheidung aus der Jejunalkanüle ccm	Ausscheidung aus der Duodenalkanüle ccm		Bemerkungen
1h 20′	—	—		
1 30	0,1	2,0		
1 40	0,2	2,5		
1 50	0,05	1,0		
2 00	0,05	2,0		
2 15	0	2,5		*Injektion 0,4 g Carnosin* (10 proz. Lösung), subkutan
2 22	0	2,2		Beginn der Darmsaftausscheidung
2 30	2,7	2,8	Galle	Häufiges Knurren in den Gedärmen (2 30 – 2 50)
2 40	0,5	5,0	Reaktion, zeitweise sauer, zeitweise alkalisch (2 40 – 4 50)	
2 50	0,4	5,5		
3 00	0,1	5,0		
3 10	0,1	5,0		
3 20	0,1	4,0		
3 30	0,1	4,0		
3 40	0,1	4,0		
3 50	0,05	4,0		
4 00	0,3	3,5		
4 10	0,3	3,0		Knurren in den Gedärmen
4 20	0,05	10,0		
4 30	0	1,0		
4 40	0	1,0		
4 50	0	0		

Anmerkung: Diesem Hunde war eine Metallkanüle im Duodenum etwa 6 cm analwärts von der Mündungsstelle des unteren Pankreasausführungsganges, und eine andere 35 cm weiter analwärts von der ersteren im Jejunum nach der bekannten Methode von *Dastre* eingenäht worden.

auch bei vollständig intakter Innervation mit einer Steigerung ihrer Tätigkeit reagieren.

Aus der Zusammenstellung aller oben angeführten Versuche sieht man auch, daß ein und dieselbe Carnosindosis nicht immer quantitativ die gleiche Sekretionssteigerung des Darmsaftes hervorzurufen imstande ist. Neben der schon erwähnten Abhängigkeit des Endresultates der Carnosinwirkung auf die Darmdrüsen von der Einverleibungszeit in bezug auf das Stadium der periodischen Drüsentätigkeit muß dieser Umstand sicher auch noch mit einigen anderen inneren bzw. individuellen vorläufig unbekannten Bedingungen im Zusammenhang gestellt werden. Aus den am Hunde 2 angestellten Versuchen erhält man außerdem den Eindruck, als ob diejenigen Carnosinlösungen, welche während 5 Minuten auf kochendem Wasserbade erwärmt worden waren, eine stärkere exzitosekretorische Wirkung auf die Darm- und besonders auf die Magendrüsen ausübten als diejenigen Lösungen, bei deren Zubereitung auf eine Erwärmung des reinen Carnosins verzichtet worden war. Die Frage danach, ob wir es hier mit einer gesetzmäßigen oder einer lediglich zufälligen Erscheinung zu tun haben, müssen wir jedoch vorläufig offen lassen.

Um auch an die Lösung der Frage nach dem Angriffspunkt des Carnosins näher herantreten zu können, wurden endlich Beobachtungen an einem Hunde, bei welchem eine Darmschlinge nach *Thiry* unter Durchtrennung möglichst aller zu diesem Darmteile verlaufenden mesenterialen Nerven isoliert worden war, angestellt. Es muß hier erwähnt werden, daß die Drüsen des auf solche Weise isolierten Darmteiles die von mehreren Autoren beschriebene typische kontinuierliche spontane Sekretion aufwiesen. Dieselbe war ihrer Intensität nach einige Tage nach der Operation eine sehr starke (am dritten Tage etwa 6 ccm Darmsaft pro Stunde), nachher wurde sie allmählich schwächer (am 13. Tage z. B. 1,0 bis 4,2 ccm Darmsaft pro Stunde), so daß etwa 6 Wochen nach der Operation, als die hier in Rede stehenden Versuche unternommen wurden, nur noch eine sehr geringe spontane Sekretion bemerkbar war.

An diesem Hunde sehen wir weiter, daß die Einführung sogar sehr kleiner Carnosinmengen (0,03 bis 0,0025 g pro Kilogramm) direkt ins Blut (Versuche 15 und 19) nach einer latenten Periode von 2 bis 6 Minuten ausnahmslos eine deutliche Steigerung der Darmsekretion sowie der Darmmotilität in diesem denervierten Darmteil ohne irgendwelche bemerkbare allgemeine Wirkungserscheinungen hervorrief. Wir möchten hier betonen, daß die nach der Einverleibung von Carnosin erzielte Sekretion des Darmsaftes bei diesem Hunde eine ihrem Ausmaße nach, auf die Einheit der sezernierten Oberfläche bezogen, durchaus keine geringere als bei den übrigen Versuchshunden mit unver-

Versuch 15. Hund 5[1]). (Nervenlose Dünndarmfistel.) Gewicht 8 kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 5 Uhr nachmittags.

Zeit	Darmsaft Menge ccm	Darmsaft Fermentgehalt	Puls	Bemerkungen
10h30'	—		—	Beginn der Beobachtung
11 30	0	—	—	
11 45	0,1		—	
12 00	0		—	
12 15	0,4		—	
12 30	0,2		95—110	
12 45	0		—	
1 00	0	Erepsin 14,2	—	
1 15	0		—	
1 30	0		—	
1 45	0		—	
2 00	0		—	
2 15	0,4		95	
2 30	0		—	
2 45	0		—	
3 00	0		—	
3 15	0,1		—	
3 30	1,2		—	
3 45	0	—	95	
4 00	0	—	95	*Injektion 0,08 g Carnosin*[2]) (4 proz. ohne Erwärmung zubereitete Lösung), intravenös
4 02	0	—	95	
4 05	0	—	95	Lebhafte peristalt. Darmbewegung. i. d. Fistelöffnung
4 06	↗	—	95	Beginn der Darmabsonderung
4 15	0,7		90	Häufige peristaltische Darmbewegungen in der Fistelöffnung
4 30	0		90—95	
4 45	0		90—95	
5 00	0		90—95	
5 15	0		90—95	
5 30	0,2		90—95	
5 45	0		90—95	
6 00	0	Erepsin 13,5	90—95	
6 15	0		90—95	
6 30	0		90—95	
6 37	0		90—95	*Injektion 0,06 g Carnosin* (dieselbe Lösg.), intravenös
6 42	↗		95	Darmbewegung. i. d. Fistelöffnung; Beginn d. Sekret.
6 45	0,45		110	Lebhafte Darmbewegungen in der Fistelöffnung
7 00	0		110	
7 02	0		110	*Injektion 0,04 g Carnosin* (dieselbe Lösg.), intravenös
7h07—08'	0,2		110	Peristalt. Darmbewegung. i. d. Fistelöffnung u. Sekret.
7h13'	0,1		95	Peristalt. Darmbewegung. i. d. Fistelöffnung u. Sekret.
7 30	0		95	*Injektion 3,0 ccm 0,85 proz. Natriumchloridlösung*, intravenös
7 45	0	—	120	Keine peristalt. Darmbewegungen i. d. Fistelöffnung
8 00	0	—	110	Keine peristalt. Darmbewegungen i. d. Fistelöffnung
8 15	0	—	95—110	
8 30	0	—	95—110	
8 45	0	—	95—110	*Injektion 0,02 g Carnosin* (dieselbe Lösg.), intravenös
8 52	0,1	—	95	Peristaltische Bewegungen in der Fistelöffnung und Darmsaftabsonderung
9 00	1 Tropf.	—	95	
9 15	0	—	95	
9 30	0	—	100	
9 45	0	—	95	Appetit gut

1) Eine junge Hündin, welcher ein etwa 10 cm langer und 40 bis 50 cm analwärts von der Plica duodenojejunalis gelegener Darmteil nach *Thiry* unter Durchtrennung aller zu demselben verlaufenden mesenterialen Nerven isoliert worden war.

2) Präparat mit Alkohol und Chloroform behandelt.

sehrten mesenterialen Darmnerven erscheint. Diese Ergebnisse sprechen natürlich dafür, daß der Angriffspunkt des Carnosins bei dessen Einwirkung auf die Darmdrüsen nicht extraintestinal, sondern in der Darmwand selbst zu suchen ist.

Zur weiteren Klärung dieser Frage könnten gewissermaßen auch die Beobachtungen über das Verhalten der durch Carnosineinführung hervorgerufenen Darmdrüsentätigkeit bei atropinisierten Tieren dienen.

Wie schon früher angegeben[1]), paralysierte bei unseren Hunden das Atropin in Mengen von 0,1 mg pro Kilogramm die exzitosekretorische Wirkung des Pilocarpins in Dosen von 1 bis 2 mg pro Kilogramm, subkutan einverleibt, vollständig. Wurde hier das Carnosin in einer verhältnismäßig großen (0,07 g pro Kilogramm) oder mittelgroßen (0,03 g pro Kilogramm) Dosis ins Blut einverleibt und, nachdem die Sekretion schon begonnen, das Atropin (etwa 0,1 mg pro Kilogramm), so war das letztere ohne bemerkbaren Einfluß auf den Gang der Sekretion (Versuche 16 und 17). Wurde jedoch eine verhältnismäßig sehr große Gabe des Atropins (0,75 bis 1,3 mg pro Kilogramm) und sodann erst auf der Höhe dessen Wirkung (vollkommene Trockenheit der Schleimhäute, maximale Tachykardie und maximale Mydriasis bei vollständigem Verschwinden der Pupillenreaktion auf Licht) etwa 0,066 g Carnosin pro Kilogramm eingeführt, so begann die Sekretion ebenfalls nach einer latenten Periode von etwa 5 Minuten und war dabei eine deutlich gesteigerte, obwohl ihrem absoluten Ausmaße nach eine relativ viel geringere als gewöhnlich bei nichtatropinisierten Tieren (Versuche 18 und 19).

Was dagegen die Motilitätssteigerung der Darmwand, welche nach Einführung des Carnosins stets beobachtet wurde, anbelangt, so scheint dieselbe durch Atropin eher begünstigt als unterdrückt zu werden. In allen diesbezüglichen Versuchen wurden gleichzeitig mit dem Beginn der Sekretion auch peristaltische Bewegungen in den Fistelöffnungen sowie dünnflüssiger Stuhl beobachtet, wobei in den Versuchen 16 und 19 die Steigerung der Darmmotilität schließlich sogar eine Invagination der isolierten Darmschlingen herbeiführte.

Aus diesen Versuchen sehen wir also, daß das Atropin sogar in Mengen, welche die die Pilocarpinwirkung *vollkommen* paralysierenden Dosen desselben mehrfach übertreffen, die erregende Wirkung des Carnosins auf die Darmsekretion nur *teilweise* unterdrückt, wobei der Hemmungsgrad von den relativen Mengen beider Substanzen sowie von der Einführungsfolge derselben abhängt. Diese Ergebnisse berechtigen uns zu der Annahme, daß das Carnosin auch hinsichtlich seiner Wirkung auf den Darmdrüsenapparat sich wesentlich von den

---

[1]) Siehe meine erste Mitteilung, diese Zeitschr. **146**, 139, 1924.

Versuch 16. Hund 1. (*Thiry-Vella*sche Jejunumfistel; Magenfistel.) Gewicht 10 kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 4 Uhr nachmittags.

Zeit	Darmsaft Menge ccm	Darmsaft Fermentgehalt	Magensaft Menge ccm	Magensaft Gesamtacidität	Magensaft HCl	Magensaft Pepsin nach *Fuld*	Bemerkungen
11h 10'	—		—	—	—	—	Beginn der Beobachtung
11 20	0,3		2,0	sauer	+	—	
11 30	1,0		2,0	neutral	—	—	Puls 85–90
11 40	0,8	Diastase $d\,{}^{38^0}_{30'} = 12$; Lipase $L\,{}^{38^0}_{20h} = 1{,}3$	5,0	„	—	—	
11 50	1,3		4,0	„	—	—	
12 00	1,1		7,0	„	—	—	
12 10	0,2		6,0	„	—	—	
12 10–15'	—		—	—	—	—	*Injektion 0,7 g Carnosin* (10 proz. Lösung), intravenös
12 15'	—		—	—	—	—	Darmbewegungen in den Fistelöffnungen, Beginn der Darmsaftabsonderung
12 20	—		—	—	—	—	*Injektion 0,001 g Atropin sulf.*, subkutan
12 25	8,5		15,0				
12 35	6,2		4,5				
12 45	2,2		3,0	0	0	32	
12 55	2,9		2,7				
1 05	4,5		2,0				Puls = etwa 200–220; Mydriasis; Pupillenreaktion auf Licht stark geschwächt
1 15	3,8		0,6				
1 25	2,9		0,7				
1 35	0,8	Diastase $d\,{}^{38^0}_{30'} = 12$; Lipase $L\,{}^{38^0}_{20h} = 0{,}7$	2,5	0	0	0	Dünnflüssiger Durchfall
1 45	2,6		0,5				Lebhafte Bewegungen in den in die Haut eingenähten Darmteilen; häufiges Knurren in den Gedärmen. Sehr unruhig
1 55	0,7		0,3				Puls 180–200
2 05	2,0		1,5				
2 15	0,4		1,5				
2 25	0,4		0,6	10	0	65	Dünnflüssiger Durchfall
2 35	2,6		0,4				
2 45	1,0		1,5				Puls 170–180
2 55	0,4		1,0				Beginn der Invagination des isolierten Darmteiles[1])

[1]) Am anderen Tage volle Invagination des isolierten Darmteiles, welche nur auf operativem Wege beseitigt werden konnte.

Versuch 17.

Hund 2. (*Thiry-Vella*sche Jejunumfistel; Magenfistel.) Gewicht 11 kg. Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 5 Uhr nachmittags.

Zeit	Darmsaft Menge ccm	Darmsaft Fermentgehalt	Ausscheidung aus der Magenfistel ccm	Bemerkungen
12h00'	—	—	Einzelne Tropfen Schleim alkalischer Reaktion	Beginn der Beobachtung
12 10	0	—		Ruhig
12 20	0	Lipase 2,0		
12 30	0			
12 40	0			
12 45	0,5			
1 00	0			
1 10	0			
1 09–10'	—	—	—	*Injektion 0,3 g Carnosin* (5 proz. Lösung). intravenös
1 15'	—	—	—	Darmbewegungen in den Fistelöffnungen; Beginn der Darmsaftabsonderung
1 16	—	—	—	*Injektion 0,001 g Atropin sulf.*, subkutan
1 17	—	—	—	Stuhlentleerung
1 25	2,5	Lipase 1,8	7,0 (Salzsäure +)	Ruhig
1 35	0,3		3,0 „	
1 45	0		0,5 „	
2 00	0		3,0 Schleim alkalisch	
2 20	0		0	

typischen parasympathicotropen Substanzen unterscheidet. Andererseits aber kann das Carnosin augenscheinlich auch nicht zu den typischen sympathicotropen Substanzen hinzugerechnet werden, da dasselbe in größeren Mengen angewandt, obwohl Pulsbeschleunigung, jedoch eine deutliche Erniedrigung des Blutdruckes verursacht; in kleineren Dosen aber, deren exzitosekretorische Wirkung jedoch eine noch ganz bedeutende ist, zeigt das Carnosin, wie schon früher angegeben, überhaupt keine Wirkung mehr auf den Zirkulationsapparat. Man bekommt also den Eindruck, daß bei der Darmsekretion das Carnosin hauptsächlich auf das Protoplasma der Drüsenzellen selbst seine Wirkung ausübt. Zur Klärung dieser Frage sind weitere Versuche bereits im Gange.

Für die Beurteilung des Mechanismus der Carnosinwirkung wäre es unseres Erachtens auch von gewisser Bedeutung, klarzustellen, ob die Menge des ausgeschiedenen Darmsaftes sich nicht in irgendwelcher genaueren Abhängigkeit von der Größe der jeweils einverleibten Dosen des Carnosins befindet. Eine sichere Lösung derartiger Fragen in bezug auf den lebenden Organismus ist natürlich als eine sehr schwierige Aufgabe zu betrachten. Es scheint uns jedoch, daß in dieser Hinsicht die an den Hunden 1 und 5 bei möglichst genau denselben Bedingungen durchgeführten Versuche eine gewisse Aufmerksamkeit verdienen. Wie aus der weiter angeführten Tabelle, in welcher die Ergebnisse *aller*, nicht nur auserwählter Versuche mit intravenöser Einverleibung

Versuch 18. Hund 2. (*Thiry-Vella*sche Jejunumfistel; Magenfistel.) Gewicht 11 kg.
Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 1 Uhr nachmittags.

Zeit	Darmsaft Menge ccm	Darmsaft Fermentgehalt	Ausscheidung aus d. Magenfistel Menge ccm	Ausscheidung aus d. Magenfistel Gesamtacidität	Ausscheidung aus d. Magenfistel HCl	Puls	Bemerkungen
12h35′	—	—	—	—	—	90	Beginn der Beobachtung
12 45	0,7	Erepsin . . . 2,6 Lipase . . . 2,0 Invertin . . . 2,1 (12 45 – 1 55)	—	—	—	95	
12 55	0,9		—	—	—	95	
1 05	0,2		0,5	sauer	—	90	
1 15	0		1,0	alkalisch	—	90	
1 25	0,4		1,0	"	—	90	
1 35	0,5		0,5	"	—	90	
1 45	0,2		1,5	"	—	90	
1 55	0,7		0,5	"	—	95	
2 05	0	—	0,5	"	—	95	
2 25	0	—	0	—	—	145	
2 27–28′	—	—	—	—	—	145	*Injektion 0,7 g Carnosin* (10 proz. ohne Erwärmung zubereitete Lösung), intravenös
2 29′	—	—	—	—	—	170	
2 33	—	—	—	—	—	170	Häufiges Knurren in den Gedärmen, Stuhlentleerung.
2 34	↗	—	—	—	—	170	Beginn der Darmsaftabsonderung.
2 40	1,9	Erepsin 1,5 Lipase 1,2 Invertin 1,6 (2 40 – 3 10)	0	—	—	120	
2 50	2,7		4,5	30	15	95	
3 00	0,4		3,0	50	35	90	
3 10	0,2		3,5	80	65	90	
3 20	0	—	5,0	105	90	90	*Injektion 0,015 g Atropin sulf.* (0,4 proz. Lösung), subkutan
3 23	0	—	0,4	sauer	+	145	
3 30	0	—	0,3	"	+	155	
3 30–31′	—	—	—	—	—	180	*Injektion 0,7 g Carnosin* (dieselbe Lösung), intravenös
3 35′	↗	—	↗	—	—	220	Maximale Mydriasis; Pupillenreaktion auf Licht fehlt; sehr unruhig (3 35′ – 4 10)
3 40	0,7	—	0,5	sauer	+	220	
3 50	0,4	—	0,2	"	+	220	
4 00	0	—	0	"	—	220	
4 10	0	—	0	neutral	—	220	

Versuch 19.

Hund 5. (Nervenlose Dünndarmfistel.) Gewicht 8 kg.
Letzte Fütterung am vorhergehenden Tage um 9 Uhr morgens.

Zeit	Menge des Darmsaftes ccm	Puls	Bemerkungen
11h15′	—	—	Beginn der Beobachtung
12 15	0	—	
12 30	0,2	110	
12 45	0	—	
1 00	0	120	
1 15	0	125	
1 30	0	125	
1 45	0	125	*Injektion 0,24 g Carnosin* [1]) (10 proz. ohne Erwärmung zubereitete Lösung), intravenös.
1 47	↗	140	Beginn der Darmsaftabsonderung
1 57	2,3	130	
2 15	0	110	
2 30	0	110—100	
2 45	0	110—100	
3 00	0,1	120—110	
3 15	0	120—110	
3 30	0,1	120—110	
3 45	0,1	120—110	*Injektion 0,006 g Atropin sulf.*, subkutan
4 00	0	250—280	Mydriasis completa, Pupillenreaktion auf Licht fehlt; Schleimhäute vollkommen trocken
4 15	0	300—280	
4 15–16′	—	300—280	*Injektion 0,5 g Carnosin* (dieselbe Lösung), intravenös.
4 20′	↗	260—250	Beginn der Darmsaftabsonderung — Mydriasis completa; Pupillenreaktion auf Licht fehlt; halluziniert fast fortwährend (bis 7 30)
4 30	0,4	260—270	Dünnflüssiger Durchfall — Darmbewegungen in den Fistelöffnungen — zeitweise; Knurren in den Gedärmen ziemlich oft (bis 6 30)
4 45	0	260—270	
5 00	0,1	260—270	
5 15	0	260—270	Dünnflüssiger Durchfall
5 30	0,1	260—270	Zeichen einer beginnenden Invagination des isolierten Darmabschnittes [2])
5 45	0	260—270	
6 00	0,3	250—240	
6 15	0	250—240	
6 30	0,1	225	
6 45	0,1	205	*Injektion 0,002 g Atropin sulf.*, subkutan
7 00	0	240	
7 15	0,1	240	
7 30	0	230	

[1]) Präparat mit Alkohol und Chloroform behandelt.

[2]) Am anderen Tage nach etwa 20 Stunden konnte die Invagination (Länge des invaginierten Darmteiles betrug zu dieser Zeit etwa 8 cm) nur mit großen Schwierigkeiten beseitigt werden.

des Carnosins an den erwähnten Hunden zusammengestellt sind, zu ersehen ist, gestatten die erlangten quantitativen Verhältnisse mit ziemlicher Sicherheit zu behaupten, daß die Menge des sezernierten Darmsaftes der Größe der jeweils injizierten Dosen des Carnosins direkt proportional ist. Dieses spricht unserer Meinung nach ebenfalls dafür, daß das Carnosin direkt auf das Protoplasma der Darmdrüsenzellen einwirkt.

Tabelle.

Nr. des Versuchs	Dosis des Carnosins g	Dauer der latenten Periode Min.	Sekretionsdauer Min.	Totalmenge des abgeschiedenen Darmsaftes ccm	Verhältnis der Totalmenge des Darmsaftes zur Größe der Carnosindosis	Verhältnis der Totalmenge des Darmsaftes zur Größe der Carnosindosis und zur Länge des isolierten Darmteiles	Bemerkungen
		Hund 1. Länge des isolierten Darmteiles etwa 30 cm.					
1	0,6	5—6	70	17,2	etwa 29	0,99	
2	0,35	5	70	8,3	„ 24	0,8	
3	0,3	5	75	6,6	„ 22	0,73	
4	0,16	5	25	4,7	„ 23	0,77	
		Hund 5. Länge des isolierten Darmteiles etwa 10 cm.					
19	0,24	2	10	2,3	etwa 10,0	etwa 1,0	Carnosinpräparat mit Alkohol und Chloroform behandelt
15	0,08	6	9	0,7	„ 8,8	„ 0,88	
15	0,06	5	3	0,45	„ 7,5	„ 0,75	
15	0,04	5	6	0,3	„ 7,5	„ 0,75	
15	0,02	7	7	etwa 0,15	„ 7,5	„ 0,75	

Aus unseren Versuchen gelangen wir also zu dem Schluß, daß im Carnosin, dessen präformiertes Vorhandensein im Muskelgewebe der höheren Tiere und des Menschen, wie schon angegeben, sichergestellt ist, der Organismus einen sehr wirksamen Funktionserreger des Darmdrüsenapparates besitzt. Tatsächlich, wenn wir die minimalen, noch wirksamen Mengen dieser Substanz mit ihrem Gesamtgehalt im Organismus vergleichen, so sehen wir, daß dieses Verhältnis in denselben Grenzen, in welchen z. B. das Adrenalin die ihm eigentümliche Wirkung auf den Blutdruck auszulösen noch imstande ist, liegt.

Auf Grund der Untersuchungen von *Fürth* und seiner Mitarbeiter soll der Carnosingehalt der Hundemuskeln auf etwa 0,3 Proz. geschätzt werden. Nehmen wir nun an, daß das Muskelgewebe gewöhnlich nicht weniger als ein Drittel des Körpergewichtes der Tiere ausmacht, so muß die Gesamtmenge des im ganzen Muskelsystem eines mittelgroßen Hundes von 10 kg Gewicht mindestens 10 g, also 1 g pro Kilogramm Körpergewicht betragen. Aus dem hier angeführten Versuchsmaterial (Versuche 9, 13 und 15) können wir sehen, daß das Carnosin schon in Gaben von etwa 3 mg pro Kilogramm, also in Mengen, welche nur etwa 0,3 Proz. seines Gesamtgehaltes im Organismus des Hundes

gleichen, eine obwohl geringe, jedoch deutlich bemerkbare Darmsekretion bei mehreren auf verschiedene Weise operierten Hunden hervorzurufen imstande waren. In Gaben von 0,01 bis 0,02 g pro Kilogramm dagegen, also im Verhältnis von 1 bis 2 Proz. seines Gesamtgehaltes im Organismus genommen, erzeugt das Carnosin eine Darmsaftabsonderung, welche ihrem Ausmaße nach der während einer Tätigkeitsperiode bei spontaner periodischer Sekretion gewöhnlich zu beobachtenden entspricht; mit anderen Worten bewirkt das Carnosin in diesen relativ winzigen Dosen eine Darmdrüsenleistung, welche quantitativ der mit Hilfe eigener Kräfte des Organismus hervorzurufenden und zweifellos zu irgend einem wichtigen Zwecke so regelmäßig eintretenden gleicht.

Die minimalste Dosis des Adrenalins, welche eventuell eine Erhöhung des Blutdruckes hervorzurufen imstande ist, wird bekanntlich zu 0,0005 mg, die sicher wirksame Dosis aber zu 0,002 mg pro Kilogramm geschätzt (16). Im Verhältnis zur Gesamtmenge des in den Nebennieren des Hundes enthaltenen Adrenalins [0,0666 bis 0,116 mg, durchschnittlich 0,092 mg pro Kilogramm Körpergewicht (16)] machen die erwähnten eben noch wirksamen Dosen entsprechenderweise etwa 0,5 und 2 Proz. aus. Diese Zahlen stimmen also im großen ganzen mit den von uns bezüglich der Carnosinwirkung auf die Darmsekretion festgestellten überein.

Wir zweifeln nicht, daß das Carnosin gleich vielen anderen Extraktivstoffen der Muskeln im Blute zirkuliert, und sind auf Grund unserer Versuche der Ansicht, daß dasselbe auch unter physiologischen Bedingungen von großer Bedeutung für die Sekretionsfähigkeit der Darmdrüsenzellen als ein wahrer Funktionserreger ist, und darum glauben wir uns der zuerst von *Krimberg* (14) ausgesprochenen Meinung anschließen zu müssen, daß das Carnosin ebenfalls zur Kategorie der Hormone hinzuzurechnen ist.

Literatur.

1) *W. Gulewitsch* und *S. Amiradžibi*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**, 565, 1900. — 2) *R. Krimberg*, ebendaselbst **48**, 412, 1906. — 3) *W. Skworzow*, ebendaselbst **68**, 36, 1910. — 4) *J. Smorodinzew*, a) Ber. d. Akad. d. Wiss., St. Petersburg 1916, S. 1535; b) Journ. d. russ. physikal.-chem. Ges. (chem. Teil) **49**, 266, 1917. — 5) *K. Joschimura*, diese Zeitschr. **37**, 477, 1911. — 6) *U. Susuki*, *K. Joschimura*, *M. Jamakawa* und *J. Irie*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **62**, 1, 1909; *U. Susuki*, Chem. Centralbl. **1913**, I, 1042. — 7) *W. M. Clifford*, Biochem. Journ. **15**, 725, 1921. — 8) *F. Bubanović*, diese Zeitschr. **92**, 125, 1918. — 9) *O. v. Fürth* und *Th. Hryntschak*, ebendaselbst **64**, 172, 1914. — 10) *O. v. Fürth* und *C. Schwarz*, ebendaselbst **30**, 413, 1911. — 11) *T. Mitsuda*, Biochem. Journ. **17**, 630, 1923. — 12) *M. Mauthner*, M.-H. Chemie **34**, 883, 1913. — 13) *G. Hunter*, Biochem. Journ. **15**, 689, 1921. — 14) *R. Krimberg*, Zur Frage über den Mechanismus der Magensekretion, Charkow 1915; Die Hormone usw., Charkow 1918. — 15) *W. Gulewitsch*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **87**, 1, 1913. — 16) *Biedl*, Innere Sekretion, 2. Aufl., **1**, 430, 1913; **2**, 6.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

Nr. 68.

Die Wechselwirkung zwischen Milz und Leber.

Von

Magobei Kobayashi.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 15. August 1924.)

Nach den allgemeinen Vorstellungen, welche von *Asher* und seinen Mitarbeitern mehrfach entwickelt worden sind, hat die Milz, abgesehen von ihrer Rolle im Eisenstoffwechsel und als Bildner von weißen Blutkörperchen, vor allem die mittelbare Funktion, in die Leistungen anderer Organe regelnd einzugreifen. Der erste experimentelle Beweis nach dieser Richtung wurde von *Ebnöther*[1]) erbracht, der die Verstärkung der Hämolyse und des Hämoglobinabbaues von Leberextrakten durch Zusatz von Milzextrakten in vitro zeigte. Am Gesamttiere arbeitend, hat dann *Gutknecht*[2]) nachweisen können, daß die Acetonbildung am entmilzten Hunde kleiner als am normalen sei. Diese beiden Arbeiten wurden von dem Gedanken ausgehend unternommen, daß, wenn es eine Wechselwirkung zwischen der Milz und anderen Organen gäbe, jedenfalls die Leber hierbei eine Vorzugsstellung einnehmen dürfte. Jüngst ist *Nakayama*[3]) erneut auf diese Beziehungen eingegangen, indem er am Hunde den Einfluß von Eiweißfütterung auf den respiratorischen Umsatz des normalen und milzlosen Hundes untersuchte. Er fand, daß die Zunahme nach Entmilzung wesentlich geringer war, noch weit geringer, wenn die Nahrung eisenarm war, und zog hieraus den Schluß, daß mit Fehlen der Milz ein die Lebertätigkeit im Eiweißstoffwechsel aktivierender Faktor in Fortfall käme.

---

[1]) *G. Ebnöther*, diese Zeitschr. **72**, 416, 1916.
[2]) *E. Gutknecht*, ebendaselbst **137**, 439, 1923.
[3]) *N. Nakayama*, ebendaselbst **149**, 490, 1924.

Um die Grundlagen zu verbreitern, auf denen sich die Vorstellung von der Wechselwirkung zwischen Leber und Milz stützen könnte, schlug mir Prof. *Asher* vor, nochmals die schon von *Gutknecht* behandelte Acetonbildung erneut zu diesem Zwecke heranzuziehen. Gerade die Acetonbildung schien hierzu ein gutes Objekt, weil die Arbeiten von *Embden* sowie diejenigen von *Fischer* unzweifelhaft erwiesen haben, daß die Acetonbildung eine Tätigkeit der Leber sei. Da diese Tätigkeit sehr gut an der überlebenden Leber geprüft werden kann, wurde mir die Aufgabe zuteil, die Größe der Acetonbildung einmal bei Durchströmung der überlebenden Leber mit Blut unter Zusatz von Acetonbildnern, das andere Mal bei Durchströmung mit der gleichen Flüssigkeit vermehrt um einen Zusatz von Milzextrakt zu vergleichen. Diese Methode hat den Vorzug, direkter und entscheidender zu sein als die früher von *Gutknecht* angewandte.

Als Versuchstiere benutzte ich Meerschweinchen. Als Methode zur Durchströmung der Leber diente mir die *Asher*sche, welche früher von *Abelin*[1]) und *Abelin* und *de Corral*[2]) bei anderweitigen Versuchen an der überlebenden Kaninchenleber gebraucht wurde. Da die Technik am Meerschweinchen keine abweichende ist, verweise ich auf die genannten Arbeiten. Der einzige Unterschied bestand darin, daß bei der Kleinheit des Versuchstieres dasselbe im ganzen in einen Behälter versenkt werden konnte, der in einem mit warmem Wasser gefüllten Wärmekasten sich befand. Oben wurden außerdem Glühlampen angebracht, welche mithalfen, den mit Gaze bedeckten Tierkörper warm zu halten. Das zur Perfusion dienende Blut wurde frisch kurz vor Beginn des Versuchs vom Schlachthof geholt und mit dem gleichen Volumen 0,85proz. NaCl-Lösung verdünnt.

Der Bestimmung der Acetonmenge in den Blutproben mußte die Enteiweißung vorausgehen. Ich verwandte hierzu die *Folin*sche Enteiweißungsmethode mit Wolframsäure, wie sie in dem Lehrbuch der minimetrischen Methoden von *Mandel* und *Steudel* beschrieben wird. Die Acetonkörper habe ich nach *Engefeld* in der von *Pincussen* in seinen mikrochemischen Methoden, zweite Auflage, angegebenen Weise bestimmt. 1 ccm der n/100 Jodlösung entsprach 0,1024 mg Gesamtaceton. Da zur Bestimmung 2 ccm Blut angewandt worden waren (20 ccm Filtrat), so wird die Menge Aceton in 1 ccm durch Multiplikation der gefundenen Zahl mit 0,0512 in Milligrammen erhalten bzw. in Grammen auf 100 ccm Blut.

Als Acetonbildner setzte ich der zu perfundierenden Blutlösung von *Merck* bezogenes, reines buttersaures Natrium zu, welches durch

---

[1]) *Abelin*, diese Zeitschr. 74, 248, 1916.
[2]) *Abelin* und *de Corral*, ebendaselbst 88, 62, 1917.

Embden als guter Acetonbildner erwiesen worden ist. Ich setzte zu je 100 ccm Blut 1 g buttersaures Natrium.

In einer ersten Versuchsreihe habe ich eine Anzahl von Versuchen ausgeführt, um die Größe der Acetonbildung in der überlebend perfundierten Meerschweinchenleber unter meinen Versuchsbedingungen festzustellen. Eine Probe der mit buttersaurem Natrium versetzten Blutlösung blieb während der jeweiligen Versuchsdauer in dem das Durchströmungsobjekt enthaltenden Thermostaten und wurde gleichzeitig mit den durchströmten Proben verarbeitet. Die Ergebnisse dieser Bestimmungen finden sich in Tabelle I.

Tabelle I.
Versuch mit normalem nicht durchströmtem Blut.

Datum	Angewandte Filtratmenge ccm	Aceton mg	Aceton pro 100 ccm Blut mg	Bemerkungen
4. III.	20	0,036	1,8	Blut mit 0,85proz. Kochsalzlösung doppelt verdünnt und 1 g buttersaures Natron in 100 ccm Blut
6. III.	20	0,041	2,1	
10. III.	20	0,052	2,6	
13. III.	20	0,045	2,25	
19. III.	20	0,038	1,94	
		Im Durchschnitt	2,1	

20 ccm Blutfiltrat entspricht 2 ccm Blut. Alle folgenden Versuche sind mit 20 ccm Filtrat vorgenommen.

Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß im Mittel in den nicht durchströmten Blutproben 2,1 mg Aceton pro 100 ccm Blut enthalten sind. Ich will es offen lassen, ob es sich um einen präformierten oder um unter Einfluß des buttersauren Natrons entstandenen Acetonkörper handelt.

In Tabelle II finden sich die Resultate nach Durchströmung der Leber. Sie zeigen, daß ausnahmslos eine Bildung von Aceton aus der Buttersäure stattgefunden hat. Die Größe der Acetonbildung beträgt

Tabelle II.
Versuch mit durchströmtem Blut ohne Zusatz von Milzextrakt.

Datum	Dauer der Durchströmung Minuten	Menge ccm	Druck mm Hg	Temperatur °C	Acetonmenge mg	Aceton pro 100 ccm Blut mg
4. III.	50	30	25	35	0,14	7,3
6. III.	40	25	30	36	0,113	5,6
10. III.	75	100	30	35	0,138	6,9
13. III.	65	60	30	29	0,092	4,6
19. III.	15	100	25	36	0,096	4,8
					Im Durchschnitt	5,8

Blut mit 0,85proz. Kochsalzlösnng doppelt verdünnt und 1 g buttersaures Natron in 100 ccm Blut.

im Durchschnitt 5,8 mg pro 100 ccm Blut. In dieser Tabelle habe ich auch die übrigen Versuchsbedingungen, welche von Interesse sein können, mitgeteilt. Selbst bei der größten Durchströmungsgeschwindigkeit, nämlich 100 ccm in 15 Minuten, kommt es zu einer deutlichen Bildung von Aceton. Die mitgeteilte Versuchsreihe beweist schließlich, daß die Meerschweinchenleber ein geeignetes Objekt zu Untersuchungen der Funktion der Leber vermittelst der Acetonbildung ist.

Die Hauptversuche wurden so angeordnet, daß in einer ersten und einer dritten Periode Blutlösung, Buttersäure enthaltend, durch die Leber geleitet wurde, während in der zweiten mittleren Periode das durchgeleitete Blut einen Zusatz von Milzextrakt enthielt. Der Kontrolle halber war es erforderlich, Versuche mit der gleichen Anordnung anzustellen, aber unter Weglassung des Milzextraktes. Hierdurch konnte in Erfahrung gezogen werden, ob Schwankungen in der Acetonausbeute vorkämen, welche bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse in Rücksicht gezogen werden müßten.

Ein Beispiel eines derartigen Versuches liefert Tabelle III. Es ergibt sich aus den vorliegenden Zahlenwerten sehr deutlich, erstens daß eine sehr merkliche Acetonbildung stattgefunden hat — etwa 7 mg pro 100 ccm Blut gegenüber 2,10 mg im nicht durchströmten Blute —, zweitens daß sie in allen drei Perioden eine konstante war. Der Versuch ist auch insofern ein recht gelungener, als die Dauer und die Geschwindigkeit der Durchströmung in den drei Perioden eine konstante blieb, auch der Druck im wesentlichen konstant erhalten werden konnte.

Tabelle III.

Versuch mit durchströmtem Blut ohne Milzextrakt in drei Perioden.

Datum	Stadium	Dauer der Durchströmung Minuten	Menge der durchströmend. Flüssigkeit ccm	Druck mm Hg	Temperatur °C	Acetonmenge mg	Aceton pro 100 ccm Blut mg
10. VI.	1. Periode	30	80	25	36	0,143	7,16
	2. „	30	80	25	36	0,139	6,96
	3. „	30	78	30	37	0,145	7,27
Kontrolle: Dasselbe Blut ohne Durchströmung						0,041	2,10

Blut mit 0,85 proz. Kochsalzlösung doppelt verdünnt und 1 g buttersaures Natron in 100 ccm Blut.

Wir können jetzt zur Betrachtung der Hauptversuche übergehen, von welchen ich in Tabelle IV vier mitteile. Wie schon bemerkt wurde, habe ich in diesen Versuchen in einer zweiten mittleren Periode dem zur Durchströmung dienenden Blute Milzextrakt zugefügt. Den Milzextrakt bereitete ich nach den Angaben von *D.* und *W. Leake*[1]) in folgender

[1]) Journ. of Pharm. and Exper. Therapeutics **22**, 75, 1923.

Weise. 5 g Milz eines frisch getöteten Tieres wurden vom anhängenden Bindegewebe und Fett frei gemacht. Das zerkleinerte Gewebe wird in 100 ccm einer 0,85 proz. NaCl-Lösung mazeriert. Alle vier Versuche zeigen ein übereinstimmendes und eindeutiges Ergebnis.

Tabelle IV.

Hauptversuch.

Datum	Stadium	Dauer der Durchströmung Minuten	Menge ccm	Druck mg Hg	Temperatur °C	Acetonmenge mg	Aceton pro 100 ccm Blut mg
21. V.	1. Periode	20	43	25	33	0,076	3,80 [1])
	2. "	30	26	25	29	0,286	14,3 [2])
	3. "	15	16	25	29	0,092	4,6 [1])
23. V.	1. "	25	36	25	33	0,164	8,1 [1])
	2. "	35	65	25	32	0,376	18,8 [2])
	3. "	30	60	25	33	0,235	11,7 [1])
3. VI.	1. "	30	105	32	36	0,08	4,0 [1])
	2. "	35	120	30	36	0,312	15,6 [2])
	3. "	30	110	31	36	0,123	6,1 [1])
5. VI.	1. "	25	58	20	37	0,097	4,86 [1])
	2. "	54	124	20	36	0,368	18,43 [2])
	3. "	40	80	20	37	0,143	7,16 [1])

Die Steigerung der Acetonausbeute aus derjenigen Periode, wo die Leber unter Zusatz von Milzextrakt durchströmt wurde, ist eine sehr große, und die Werte sind von einer Größenordnung, welche in meinen sonstigen Versuchen auch nicht angenähert vorkamen. Die Werte 14,3, 18,8, 15,6 und 18,43 mg repräsentieren eine mehr als vierfache Steigerung des Acetons pro 100 ccm Blut und sind, absolut genommen, die höchsten von mir beobachteten. Sie lassen den Schluß zu, daß unter dem Einfluß des Milzextraktes die Acetonbildung in der Leber eine starke Förderung erfährt und somit Milzextrakt auf eine klar umschriebene Funktion der Leber aktivierend wirkt.

Es erhebt sich nun die Frage, ob die beobachtete Wirkung des Milzextraktes eine einigermaßen spezifische sei, oder ob sie auch mehr oder weniger allgemein Gewebsextrakten mit ihrem Gehalt an allen möglichen Stoffen zukomme. Es mußte insbesondere daran gedacht werden, ob neben bekannten Acetonbildnern Cholin, welches in Milzextrakten obligat vorkommt, dasjenige sei, welches im Sinne der Förderung auf die Leber einwirke.

Um die aufgeworfene Frage experimentell zu prüfen, habe ich in einigen Versuchen in der sonst gleichen Versuchsanordnung Darm-

[1]) Blut mit Kochsalzlösung doppelt verdünnt und 1 g buttersaures Natron in 100 ccm Blut.

[2]) Blut mit Milzextrakt doppelt verdünnt und 1 g buttersaures Natron in 100 ccm Blut.

extrakt gebraucht. Auch im Darmextrakt kommt Cholin vor und eignete sich daher derselbe sehr gut zu vergleichenden Versuchen. Den Darmextrakt stellte ich in der gleichen Weise wie den Milzextrakt her.

Zwei Beispiele, welche ich in Tabelle V mitteile, geben das Resultat des Vergleichs. Es zeigt sich, daß Darmextrakt auf die Acetonausbeute gar keinen Einfluß besitzt. Aus dieser Versuchsreihe folgt als wichtigster Schluß, daß schwerlich der Cholingehalt des Milzextraktes an den bemerkenswerten Ergebnissen der Versuche in Tabelle IV einen Anteil hat. Sodann sprechen die letzteren Beobachtungen zugunsten der Auffassung, daß die Milz hinsichtlich der Förderung der betrachteten Milzfunktion eine gewisse Spezifität, jedenfalls gegenüber dem Darm, dessen Blut sich gleichfalls in die Leber ergießt, eine Vorzugsstellung besitzt.

Tabelle V.

Versuch mit Darmextrakt.

Datum	Stadium	Dauer Minuten	Menge ccm	Druck mg Hg	Temperatur °C	Aceton mg	Aceton pro 100 ccm Blut mg
13. VI.	1. Periode	30	105	25	36	0,071	3,67 [1])
	2. „	35	100	20	36	0,075	3,80 [2])
	3. „	30	100	20	36	0,078	3,90 [1])
17. VI.	1. „	30	75	20	34	0,099	4,96 [1])
	2. „	20	25	20	35	0,092	4,60 [2])
	3. „	35	80	25	36	0,113	5,63 [1])

Die mitgeteilten Versuche waren von der Vorstellung ausgegangen, daß die Milz einen aktivierenden Einfluß auf Funktionen der Leber besitzt. Insbesondere war es Aufgabe der Arbeit gewesen, hinsichtlich der Acetonkörperbildung durch die Leber, für welche schon die Versuche *Gutknechts* sprachen, strengere Beweise zu erbringen. Die vorliegende Arbeit hat den Beweis erbracht, daß Milzextrakt die Acetonbildung in der überlebend durchströmten Leber fördert, anscheinend in einer spezifischen Weise. Man kann trotz dieses Nachweises den Einwand erheben, daß der Beweis noch aussteht, daß im Körper die Milz einen Stoff auf dem Blutwege abgibt, welcher, die Leber im Pfortaderblut erreichend, regelnd in die Acetonkörperbildung eingreift. Der Einwand kann schwerlich die künstliche Durchströmung treffen, weil gar kein Anhaltspunkt dafür vorliegt, daß die beobachtete Acetonkörperbildung ein Kunstprodukt wäre. Anders steht es mit der Frage,

[1]) Blut mit Kochsalzlösung doppelt verdünnt und 1 g buttersaures Natron in 100 ccm Blut.

[2]) Blut mit Darmextrakt verdünnt und 1 g buttersaures Natron in 100 ccm Blut.

ob Extraktwirkung und hormonale Regelung etwas miteinander zu tun haben. In dieser Beziehung muß eine sorgfältige Kritik vor irrtümlicher Gleichsetzung bewahren. Will man dieser Rechnung tragen und Vorsicht obwalten lassen, so wird man zu dem Schluß gelangen, daß meine Versuche der Vorstellung, daß die Milz aktivierend auf Leberfunktionen wirke, Vorschub leisten. Es scheint mir, daß meine Versuche, angesichts der Versuchsbedingungen und mit anderen Tatsachen im Zusammenhang betrachtet, sogar noch mehr Beweiskraft besitzen. Immer würde es sich verlohnen, eine Methode auszuarbeiten, um im strömenden Blute das postulierte Agens nachzuweisen.

Von einer Erklärungsmöglichkeit war bisher nicht die Rede. Es wurde immer davon gesprochen, daß eine vermehrte Bildung von Aceton stattfände. Die beobachtete Tatsache bestand in einer größeren Acetonmenge im durchströmten Blute, wenn gleichzeitig Milzextrakt zugegen war. Dieselbe Tatsache würde aber auch daraus resultieren können, daß eine Weiterverarbeitung von Aceton gehemmt oder unterdrückt würde. Der Angriffspunkt des Milzagens wäre dann ein anderer. Es scheint mir aber, daß die soeben vorgetragene symptomatische Erklärung, weil vorläufig rein hypothetisch, außer Diskussion bleiben kann.

Zusammengefaßt sind die Ergebnisse der Arbeit die nachfolgenden:

1. In der überlebenden Meerschweinchenleber wurde vermittelst Durchströmung mit einer Blutlösung unter Zusatz von buttersaurem Natron Acetonbildung nachgewiesen.

2. Die Größe dieser Acetonbildung ist bei konstant gehaltenen Versuchsbedingungen während mehrerer Perioden konstant.

3. In derjenigen Periode, wo der Durchströmungsflüssigkeit Milzextrakt zugesetzt wird, wurde eine drei- bis vierfache Steigerung der Acetonbildung beobachtet.

4. Extrakt der Darmwand, welche wie Milzextrakt Cholin enthält, besaß die genannte aktivierende Wirkung nicht.

5. Die mitgeteilten Versuche bestätigen die mit anderer Methode gefundenen Tatsachen hinsichtlich der Acetonbildung von *Gutknecht* und sind neue Stützen der Lehre von *Asher*, daß zu den Funktionen der Milz eine Aktivierung von Lebertätigkeiten gehört.

Über Amygdalinspaltung durch Takadiastase.

Von

J. Hatano.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 8. August 1924.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Von den Eigenschaften der Takadiastase ist am längsten ihre Fähigkeit bekannt, Stärke bis zur d-Glucose zu verzuckern. Man hat daraus mit Recht geschlossen, daß sie ein Ferment der α-Glykosidreihe enthält. Nun ist im allgemeinen das gleichzeitige Vorkommen von α- und β-Glykosidasen bei ein und demselben Organismus selten. Nur bei der Hefe, welche reichliche Mengen einer α-Glykosidase, der Maltase, beherbergt, hat man beobachtet, daß sie auch β-Ferment einschließt, weil sie Amygdalin anzugreifen vermag. Für gewöhnlich wird dabei nur eine Hydrolyse zu Mandel-nitril-glucosid und Traubenzucker [*E. Fischer*[1])] erreicht. *Th. A. Henry* und *S. J. M. Auld*[2]) haben jedoch eine englische obergärige Preßhefe beschrieben, welche 33 Proz. vorhandenen Amygdalins in seine Grundkörper, Glucose, Benzaldehyd und Blausäure, spaltete. Eine schwache Hydrolyse hat ferner *A. Bau*[3]) wahrgenommen. Die Abtrennung der β-Glucosidase von den Hefenzellen ist *C. Neuberg* und *E. Färber*[4]) gelungen zusammen mit dem Nachweise, daß das Enzym in Unterhefen vorkommt. Zu dem Ergebnis, daß β-Glucosidase in verschiedenen Hefen zugegen ist, sind *R. Willstätter*, *R. Kuhn* und *H. Sobotka*[5]) gelangt. *Neuberg* und *Färber* haben auch eine Zersetzung einfacher β-Glucoside (Arbutin und Salicin) durch Hefeferment festgestellt.

Die β-glykosidische Kraft der Hefe ist nur schwach ausgebildet, und es ist daher von Interesse, daß die Zerlegung von Amygdalin

---

[1]) *E. Fischer*, Ber. **28**, 1508, 1895.

[2]) *Th. A. Henry* und *S. J. M. Auld*, Chem. Centralbl. **1905**, II, 1812.

[3]) *A. Bau*, diese Zeitschr. **78**, 340, 1916.

[4]) *C. Neuberg* und *E. Färber*, diese Zeitschr. **78**, 264, 1917.

[5]) *R. Willstätter*, *R. Kuhn* und *H. Sobotka*, H. **184**. 227, 1924.

rch ein typisches, α-Glykoside angreifendes Fermentmaterial, die *kadiastase*, in praktisch quantitativem Umfange herbeigeführt werden kann. Sie enthält also *Gentiobiase*, die auf die β-glucosidische Amygdalose[1]) wirkt, nebst β-Phenol-glucosidase, die das zunächst entstandene Prunasin (Mandel-nitril-glucosid) hydrolysiert, also zwei verschiedene Enzyme der β-Reihe.

Zu meinen Versuchen bediente ich mich der japanischen Takadiastase. Sie ist imstande, das Amygdalin nahezu vollständig in 2 Mol. Traubenzucker, Benzaldehyd und Blausäure zu zerlegen. Sämtliche drei Bausteine habe ich nachgewiesen. In einem meiner Versuche bin ich sogar zu einer Spaltung von 101 Proz. gelangt, die ich auf Ungenauigkeiten bei der Titration des Zuckers zurückführen muß, indem vielleicht noch kleine Mengen Benzaldehyd zugegen gewesen sind, obgleich vorher Benzaldehyd und Blausäure durch Destillation im Wasserdampfstrom nach Möglichkeit ausgetrieben worden waren.

Die von mir verwendete Fermentprobe hat auch bei längerer gestion im Brutschrank nicht mehr als Spuren reduzierender Substanz Wasser abgegeben, so daß diese Fehlerquelle nicht in Betracht nmt.

Die Bestimmung des Benzaldehyds geschah als p-Nitrophenylhydrazon; aus ihr folgt ebenfalls die fast maximale Spaltung.

Im einzelnen ergaben sich folgende Verhältnisse:

I. a) 1 g Amygdalin, 100 ccm H_2O, 0,3 g Takadiastase und 1 ccm Toluol.

b) Kontrolle: 100 ccm H_2O, 0,3 g Takadiastase sowie 1 ccm Toluol.

c) Kontrolle: 1 g Amygdalin, 100 ccm H_2O nebst 1 ccm Toluol.

Die drei Gemische wurden in den Brutschrank bei 37° gestellt. Den Zucker habe ich titrimetrisch ermittelt, nachdem Cyanwasserstoff und Benzaldehyd entfernt worden waren[2]).

p_H war am Anfang 6,5 und am Ende 6,2.

Abgespaltene Zuckermenge in Gramm für 100 ccm der Flüssigkeit.

	Nach Stunden					
	2	24	48	72	96	120
a	0,1003	0,4529	0,6009	0,7102	0,7184	0,7209
b	0	0	0	0	0	0
c	0	0	0	0	0	0

[1]) *R. Kuhn*, Ber. **56**, 857, 1923; *W. N. Haworth* und *B. Wylam*, Journ. Chem. Soc. London **123**, 3120, 1923; *R. Campbell* und *W. N. Haworth*, ebendaselbst **125**, 1337, 1924; *G. Zemplén*, Ber. **57**, 698, 1924.

[2]) *R. Willstätter* und *W. Czányi*, H. **117**, 177, 1921.

In Freiheit gesetzte Zuckermenge in Prozenten.

Nach Stunden					
2	24	48	72	96	120
13,84	62,49	82,91	97,99	99,12	99,4(

Mein Amygdalin war etwas verwittert und enthielt 8 Proz. H_2O (s ... 10,6 Proz.); also entsprach 1 g Amygdalin 0,7248 g Glucose und 0,21.4... Benzaldehyd.

II. In einem ebensolchen Ansatz zur Zerlegung von 1 proz. Am... dalinlösung (1000 ccm) durch Takadiastase fand ich nach 4 Ta... 101,02 Proz. Zucker.

Im Destillat erhielt ich Bittermandelöl nebst HCN. 250 c... vom Gemisch wurden mit 12,5 ccm 10 proz. H_2SO_4 angesäuert und ... Wasserdampf behandelt. Im Übergegangenen wurde der Benzaldel... bestimmt.

p-Nitrophenylhydrazon: 1,1248 g entsprechend 0,4947 g Be... ...hyd oder = 92,7 Proz.

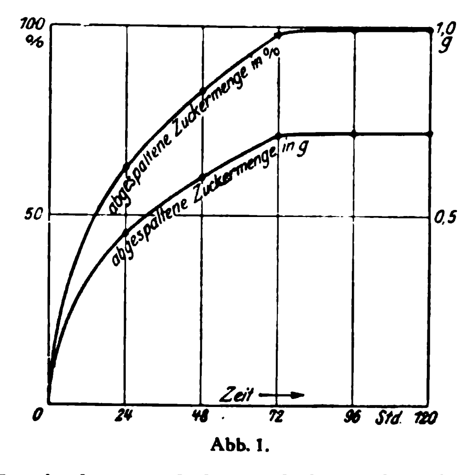


Abb. 1.

Aus Abb. 1 geht hervor, daß innerhalb 24 Stunden unter den ...on ...wählten Versuchsbedingungen bereits eine Spaltung von 62,5 Pr... ...nach 72 Stunden von 98 Proz. erreicht gewesen ist.

Über die Spaltung verschiedener β-Glucoside durch Takadiastase.

Von

J. Hatano.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 8. August 1924.)

In der voranstehenden Mitteilung ist beschrieben, daß Amygdalin durch Takadiastase vollkommen in seine Grundbestandteile zerlegt werden kann. Das Amygdalin stellt nun ein gemischtes Glucosid dar; zunächst liegt eine β-saccharidische Verknüpfung zweier Glucosemoleküle zur sogenannten Amygdalose = Gentiobiose vor, und an dieses Di-saccharid ist zugleich β-glucosidisch das Oxybenzylcyanid (Mandelsäurenitril) gebunden.

Es war nun von Interesse festzustellen, ob die als typisches α-glucosidisches Fermentmaterial geltende Takadiastase befähigt ist, auch weniger komplizierte und in ihrem Bau leichter übersichtliche β-Glucoside anzugreifen.

Zur Prüfung dieser Frage wählte ich das *β-Methyl-glucosid*, das *Salicin* und das *Äsculin*. Bei den beiden ersten Substanzen entfallen die Schwierigkeiten der Zuckerbestimmung, welche durch die Gegenwart von anderen reduzierenden Spaltungsprodukten bedingt werden.

Es hat sich in mehreren Versuchsreihen gezeigt, daß auch die genannten drei einfachen Glucoside durch eine β-Glucosidase der Takadiastase unzweifelhaft hydrolysiert werden.

Ein Bild von den sich abspielenden Vorgängen gab zunächst die polarimetrische Untersuchung nach Aufhebung der Multirotation. Aus dem benutzten Ferment selber trat gleichfalls in die Lösung optisch aktive Substanz über, jedoch wurde deren Menge bzw. Drehwert nach 6 Stunden bereits konstant.

Obzwar die Spaltung sich schon durch das optische Verhalten sicher offenbarte, habe ich im Falle des β-Methyl-glucosids und Salicins auch den in Freiheit gesetzten Traubenzucker durch Titration ermittelt

und beim Äsculin das abgespaltene Äsculetin (= 4, 5-Dioxy-cumar gewogen.

Über die erzielten Werte geben die nachstehend im Anschluß an die einzelnen Versuche mitgeteilten Tabellen Auskunft.

Bei der enzymatischen Äsculinhydrolyse schieden sich glitzernde Kristalle des Äsculetins aus der bebrüteten Flüssigkeit unmittelbar au

A. β-Methylglucosid und Salicin

In beiden Fällen:

1. 1,5 g Glucosid, 75 ccm Wasser, 0,5 g Takadiastase, 1 ccm Toluo
2. Kontrolle a: 75 ccm Wasser, 0,5 g Takadiastase, 1 ccm Toluo
3. Kontrolle b: 0,2 g Glucosid, 10 ccm Wasser, 0,5 ccm Toluo

B. Äsculin.

1. 1,5 g Äsculin, 500 ccm Wasser, 1,5 g Takadiastase, 5 ccm Toluo
2. Kontrolle: 0,2 g Äsculin, 667 ccm Wasser, 0,7 ccm Toluol.

Die Mischungen wurden bei 37⁰ aufbewahrt. Nach 6 Stunden 24 Stunden usw. wurde unter den üblichen Kautelen die Änderung der optischen Aktivität bestimmt.

Drehung im 2-dcm-Rohre in Prozente Traubenzucker anzeigendem Apparat.

	Nach Stunden					
	0	6	24	48	72	96
β-Methyl-glucosid .	— 1,25	— 0,85	— 0,70	— 0,55	— 0,45	—
Salicin	— 2,35	— 1,55	+ 0,20	+ 1,20	+ 1,20	+ 1,30
Äsculin	— 0,40	± 0	+ 0,10	+ 0,10	+ 0,10	+ 0,10
Kontrolle a . .	± 0	— 0,20	— 0,20	— 0,20	— 0,20	— 0,20

	Nach Stunden					
	120	144	168	192	216	240
β-Methyl-glucosid .	— 0,40	— 0,35	— 0,30	— 0,25	— 0,18	— 0,20
Salicin	+ 1,30	—	+ 1,20	—	—	—
Äsculin	+ 0,10	—	—	—	—	—
Kontrolle a . .	— 0,20	—	— 0,20	— 0,20	— 0,20	— 0,20

Die andere Kontrollösung b wurde gar nicht verändert.

Die Wasserstoffionenkonzentration wurde nicht reguliert und war nicht optimal. In den pufferlosen Ansätzen war p_H:

	Anfangs	Am Ende
Bei β-Methyl-glucosid.	6,8	6,7
„ Salicin	6,8	6,2
„ Äsculin	6,2	6,4

In den Endlösungen wurde der Zuckergehalt titrimetrisch festgestellt.

Gefunden wurden für den Ansatz von β-Methyl-glucosid 0,469 g Glucose = 35,3 Proz. der Theorie[1]); für den Ansatz von Salicin 0,885 g Glucose = 93,75 Proz. der Theorie.

Da Äsculin wie Äsculetin auf *Fehling*sche Lösung einwirken, habe ich bei der Hydrolyse des 4, 5-Dioxycumarin-glucosids das nach Beendigung des Versuches, d. h. nach 10 Tagen, ausgefallene Äsculetin abgesaugt, mit Eiswasser ausgewaschen und nach Trocknung im Vakuumexsikkator zur Wägung gebracht. Dabei wurde die nach Einengung der Mutterlauge im Eisschrank ausgeschiedene Äsculetinmenge ebenfalls berücksichtigt. Aus 5,0 g Äsculin erhielt ich 2,163 g Äsculetin oder 81 Proz. der theoretisch möglichen Ausbeute. Durch den Schmelzpunkt (263°) sowie die optische Inaktivität war das Äsculetin leicht vom lävogyren Ausgangsmaterial, dem Äsculin, zu unterscheiden, das sich erheblich niedriger verflüssigte.

Die mitgeteilten Belege lehren, daß unzweifelhaft in der Takadiastase neben ihren altbekannten α-glucosidischen Enzymen auch β-Ferment in reichlicher Menge zugegen ist. Das steht im Einklang mit den Befunden von *C. Neuberg* und *O. Rosenthal*, die sowohl eine Hydrolyse von Milchzucker[2]) (= β-1-Galaktosido-5-glucose) als von Cellobiose[3]) (= β-1-Glucosido-5-glucose) mit Takadiastase erzielt haben. Ob die stärkere Spaltung der Phenolglucoside auf eine besondere β-Phenolglucosidase zu beziehen ist, von der das β-Methyl-glucosid zerlegende Ferment als β-Alkohol-glucosidase zu unterscheiden wäre, bleibe dahingestellt[4]).

---

[1]) Bei $p_H = 5,6$ besitzt die Takadiastase nach *Y. Hattori* (diese Zeitschr. **150**, 151, 1924) kein Spaltungsvermögen für β-Methyl-glucosid.

[2]) *C. Neuberg* und *O. Rosenthal*, ebendaselbst **145**, 186, 1924.

[3]) *C. Neuberg* und *O. Rosenthal*, ebendaselbst **143**, 399, 1923.

[4]) Vgl. hierzu *R. Willstätter*, *R. Kuhn* und *H. Sobatka*, H. **129**, 33, 1923.

Autorenverzeichnis.

Abelin, J. s. *Asher.*

Asher, Leon. Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 67. Erneute Untersuchungen über die Milz als ein Organ des Eisenstoffwechsels. Von Kimio Nakayama. S. 119.

— Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 68. Die Wechselwirkung zwischen Milz und Leber. Von Magobei Kobayashi. S. 491.

Asher, L., J. Abelin und *N. Scheinfinkel.* Untersuchung über die Permeabilität der Zellen. XII. Mitteilung: Abhängigkeit der Gewebspermeabilität von der sympathischen Innervation. S. 112.

Barendrecht, H. P. Saccharase und die zweite Wirkungsart der Wasserstoffionen. S. 363.

Brugsch, Theodor u. *Hans Horsters.* Studien über intermediären Kohlenhydratumsatz und Insulin. Über die Zwischenzucker in Leber und Muskulatur. VI. S. 203.

Brugsch, Theodor, Hans Horsters und *Giichi Shinoda.* Studien über intermediären Kohlenhydratumsatz an der Leber bei gleichzeitiger Verfolgung des Gaswechsels (Norm, Hunger, Insulinwirkung, pankreoprive Leber). VII. S. 318.

Csapó, J. u. *D. v. Klobusitzky,* Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Salzflockung der Serumeiweißkörper. I. S. 90.

Engel, Werner s. *Herzfeld.*

Eichholtz, Fritz. Über kolloidchemische Fett-Lipoidwirkungen. S. 187.

Glaser, Erhard und *Lazar Wittner.* Über die blutzuckerherabsetzende Wirkung von Pflanzenextrakten und Oxydasen sowie den Nachweis von Fermenten im Insulin. S. 279.

Gollwitzer-Meier, Klothilde. Abhängigkeit der Erregbarkeit des Atemzentrums von dem Gleichgewicht bestimmter Ionen im Blut. S. 54.

— Die chemische Atmungsregulation bei alkalischer Blutreaktion. S. 424.

Gombos, Helene. Über die Möglichkeit, permanganat-oxydable Substanzen auf dem Wege der Spektrophotometrie zu bestimmen. S. 1.

— Über die Unstimmigkeit in der Lage eines spektroskopisch und spektrophotometrisch bestimmten Absorptionsmaximums. S. 7.

Gottschalk, A. s. *Neuberg.*

Hammarsten, Einar. Zur Frage über den osmotischen Druck der hochmolaren Elektrolyte. S. 177.

Hári, P. Über einen Fall von Porphyrinurie. S. 274.

Hatano, J. Über die Spaltung von Seidenfibroinpepton durch Takadiastase. S. 335.

— Über Amygdalinspaltung durch Takadistase. S. 498.

— Über die Spaltung verschiedener β-Glucoside durch Takadiastase. S. 501.

Herzfeld, Ernst und *Werner Engel.* Über chinin- und atoxylfeste Lipasen in der Thyreoidea. S. 310.

Horsters, Hans s. *Brugsch.*

Jacoby, Martin und *Margarete Jacoby*. Über die Einwirkung der Sonnenbestrahlung auf das Komplement. S. 314.

Jacoby, Margarete s. *Jacoby*.

Jorpes, Erik. Zur Frage nach den Pankreasnucleinsäuren. S. 227.

Kaho, Hugo. Über die Beeinflussung der Hitzekoagulation des Pflanzenplasmas durch die Salze der Erdalkalien. VI. S. 102.

Kerb, Johannes und *Elisabeth Kerb-Etzdorf*. Zur Kenntnis der Glucosane. Nachtrag zu der früheren Mitteilung. S. 435.

Kerb-Etzdorf, Elisabeth s. *Kerb*.

Kémeri, D. Über einen neuen porphyrinartigen Bestandteil normaler menschlicher Fäzes. S. 438.

Klobusitzky, D. v. s. *Csapó*.

Kochmann, Rudolf. Über Auxoureasen. Der Mechanismus d. Kalkwirkung. S. 259.

Kroetz, Christian. Zur Biochemie der Strahlenwirkungen. I. Mitteilung: Der Einfluß ultravioletter und Röntgenstrahlen auf die aktuelle Blutreaktion und auf die Erregbarkeit des Atemzentrums. S. 146.

— Zur Biochemie der Strahlenwirkungen. II. Mitteilung: Der Einfluß der ultravioletten und Röntgenstrahlung auf den Wasser-, Salz- und Eiweißbestand des Serums. S. 449.

Komarow, S. A. Zur Frage nach dem Mechanismus der Darmsekretion. III. Mitteilung: Über die Einwirkung des Carnosins auf die Darmsekretion. S. 467.

Lipmann, F. und *J. Planelles*. Blutzuckerkurven nach intravenöser Einspritzung von α-, β- und α, β-Glucose beim Kaninchen. S. 98.

Lundegårdh, H. und *Vl. Morávek*. Untersuchungen über die Salzaufnahme der Pflanzen. I. Mitteilung: Die gegenseitige Beeinflussung der Ionen. S. 296.

Medici, Giuseppe. Untersuchungen über den Einfluß einzelner Bestandteile der Ringerlösung auf die Wirkung von Hormonen. S. 133.

Morávek, Vl. s. *Lundegårdh*.

Neuberg, C. u. *A. Gottschalk*. Über den Verlauf der anaeroben Pflanzenatmung. Vorläufige Mitteilung. S. 167.

— — Weitere Untersuchungen über die Entstehung von Acetaldehyd in tierischen Organen (Aceton-Leber). S. 169.

Planelles, J. s. *Lipmann*.

Politzer, G. Über die Giftwirkung des Neutralrots. S. 43.

Ruoss, Hermann. Über die Gesetze der Reduktionskraft organischer Verbindungen in alkalischer Lösung und die quantitative Bestimmung des Zuckers durch Stufenanalyse auch bei kolloidalem Ausscheiden des Cu_2O. S. 337.

— Nachweis des Traubenzuckers im Harn mit alkalischer Kupfer-Glycerinlösung für die Praxis. S. 357.

Santomauro, Pietro. Über die phytochemische Reduktion des Methyl-α-chlor-äthyl-ketons. S. 48.

Scheinfinkel, N. s. *Asher*.

Schlee, H. u. *W. Thiessenhusen*. Die Konzentration des Silberions in Lösungen von kolloiden und komplexen Silberpräparaten mit besonderer Berücksichtigung ihrer medizinischen Anwendung. II. S. 27.

Sen, H. K. Die biochemische Umwandlung von unsymmetrischem Di-chlor-aceton in optisch-aktiven α, α-Di-chlor-iso-propyl-alkohol. S. 51.

Shinoda, Giichi s. *Brugsch*.

Sierakowski, Stanislaw. Über Veränderungen der H-Ionenkonzentration in den Bakterienkulturen und ihr Entstehungsmechanismus. S. 15.

Stärkle, Max. Die Methylketone im oxydativen Abbau einiger Triglyceride (bzw. Fettsäuren) durch Schimmelpilze unter Berücksichtigung der besonderen Ranzidität des Kokosfettes. Anhang: I. Die Bedeutung der Methylketone im Biochemismus der Butterranzidität. II. Über die Entstehung und Bedeutung der Methylketone als Aromastoffe im Roquefortkäse. S. 371.

Stasiak, A. Hypoglykämie und Tierpassage. S. 84.

Steidle, Hans. Besitzen eßbare Pilze antiskorbutische Wirkung? S. 181.

Stern, Rudolf. Physikalisch-chemische Untersuchungen über die Harnsäure. II. Mitteilung: Über die hydrotropische Beeinflussung der Harnsäure. S. 268.

Thiessenhusen, W. s. *Schlee.*

Tsukamoto, Ryotaro. Experimentelle Untersuchungen zur dynamischen Wirkung der Ionen auf Wachstumsvorgänge bei vitaminreicher Ernährung. S. 216.

Vásárhelyi, B. s. *Verzár.*

Verzár, F. und *B. Vásárhelyi.* Der CO_2-Gehalt des Kapillarblutes und seine Bestimmung. S. 246.

Verzár, F. u. *A. Zih.* Weitere Untersuchungen über die Stoffwechselregulierung bei B. coli comm. III. S. 254.

Wittner, Lazar s. *Glaser.*

Wollheim, Ernst. Vegetatives Nervensystem und Elektrolytverteilung. S. 416.

Zih, A. s. *Verzár.*

